

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

PET amiloide en la esclerosis múltiple

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Vanesa Pytel

Directores

Jorge Matías-Guiu Guía
Jordi Matías-Guiu Guía Antem
María Nieves Cabrera Martín

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA



**UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID**

PET AMILOIDE EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

TESIS DOCTORAL

VANESA PYTEL

Directores:

Jorge Matías-Guiu Guía

Jordi Matías-Guiu Antem

María Nieves Cabrera Martín

Universidad Complutense de Madrid
Facultad de Medicina
Programa de Doctorado en Investigación en Ciencias
Médico-Quirúrgicas



**UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID**

PET AMILOIDE EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

por **Vanesa Pytel**

Bajo la dirección de los doctores

Jorge Matías-Guiu Guía

Jordi Matías-Guiu Antem

María Nieves Cabrera Martín

Madrid, febrero de 2019

Universidad Complutense de Madrid
Facultad de Medicina
Programa de Doctorado en Investigación en Ciencias
Médico-Quirúrgicas



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

PET AMILOIDE EN LA **ESCLEROSIS MÚLTIPLE**

Memoria para optar al grado de Doctor presentada por

VANESA PYTEL

Dirigida por los doctores

Jorge Matías-Guiu Guía

Jordi Matías-Guiu Antem

María Nieves Cabrera Martín

Madrid, febrero de 2019



U N I V E R S I D A D
COMPLUTENSE
M A D R I D

**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS
PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

D./Dña. Vanesa Pytel,
estudiante en el Programa de Doctorado en Investigación en Ciencias Médico-Quirúrgicas,
de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de
Madrid, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y
titulada:

"PET AMILOIDE EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE"

y dirigida por: los Doctores Jorge Matías-Guiu Guía, Jordi Matías-Guiu Antem y María Nieves
Cabrera Martín

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Madrid, a 21 de febrero de 2019

Fdo.: 

Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en
la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.

*"La ciencia no es solo una disciplina de razón,
sino también de romance y pasión."*

Stephen Hawking

Agradecimientos

Mi vida ha estado marcada desde muy temprano por retos y desafíos. Retos que me han enseñado a ser fuerte, a que uno debe luchar por lo que desea, que los sueños se cumplen si se trabaja duro y que mientras más nos cuestan, más se disfrutan. Cuando tenía diecinueve años la vida puso delante de mí el mayor de los incentivos para buscar ser la mejor versión posible de mí misma, y este trabajo de tesis doctoral forma parte de esa búsqueda.

El camino que me ha traído desde Argentina hasta España no ha sido fácil. Sin embargo, no me queda la menor duda que todo este esfuerzo ha valido la pena. Estoy profundamente agradecida a este país, que me ha acogido y me ha brindado muchas oportunidades para continuar creciendo a nivel profesional y también personal; todo este cariño y reconocimiento se lo devolveré a España y a su gente tan entrañable.

A lo largo de este camino he tenido la suerte de conocer a personas maravillosas, sin las cuales no habría sido posible llevar a término este proyecto, tan intenso, exigente y desafiante. Todas ellas son parte muy importante de mi vida y de este logro, y por ello quiero dedicarles las

siguientes líneas de agradecimiento.

Al Prof. Jorge Matías-Guiu Guía, mi tutor y director de tesis, quien al llegar a España me abrió las puertas a este excelente grupo de trabajo al que tengo el orgullo de pertenecer, y transmitiéndome su vocación por la neurología, me enseñó mucho de esta hermosa profesión y fundamentalmente, confió y creyó en mí desde el primer momento.

Al Dr. Jordi Matías-Guiu Antem, mi director, un extraordinario profesional, por enseñarme tanto durante estos años, por ser un referente a quien admiro mucho y por transmitirme su pasión por la neurología. Gracias por creer en mí, por apoyarme y guiarme en este y todos los proyectos que compartimos.

A la Dra. María Nieves Cabrera Martín, también mi directora de tesis, a quien aprecio mucho, por su apoyo constante, por sus enseñanzas, su inestimable ayuda y por ser para mí una guía fundamental en todo este tiempo.

Al Prof. José Luis Carreras Delgado por su apoyo y la confianza depositada en este proyecto.

A Paloma Montero Escribano, por todos sus aportes y comentarios profesionales en este trabajo, pero fundamentalmente por su cariño y palabras de aliento que han hecho que este camino sea más fácil.

A la Dra. Teresa Moreno Ramos por su gran respaldo en este y todos los proyectos que hemos realizado durante estos años, por sus consejos

y la confianza depositada en mí.

Al Prof. Jose Ayala Rodrigo por su ayuda en la últimas etapas de este trabajo, por sus enseñanzas siempre acompañadas de una sonrisa, porque hace que todo sea más sencillo.

A todos los neurólogos del Servicio de Neurología del Hospital Clínico San Carlos, especialmente a Lucía Galán Dávila y Antonio Guerrero Sola por la confianza en mí y en mi trabajo.

Al equipo de neuropsicólogos del Hospital Clínico San Carlos, en particular a Ana Cortés Martínez por su aporte en las evaluaciones cognitivas de los pacientes; a Irene Serrano García del servicio de estadística, al personal de enfermería, auxiliares, administrativos, que forman parte de los Servicios de Neurología y Medicina Nuclear del Hospital Clínico San Carlos por el apoyo en la realización de este trabajo.

A todo el plantel de médicos, profesores y profesionales de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires (UBA), la Universidad Complutense de Madrid (UCM) y del Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA) por haberme formado no solamente a nivel científico y médico, sino también a nivel personal, priorizando al paciente y su bienestar.

A Laura Torre Fuentes, una de las personas más importantes que conocí desde que llegué a este hermoso país, por las innumerables veces que tuvo la palabra justa para darme ánimo y no permitirme bajar los brazos cuando todo parecía tornarse cuesta arriba.

A Alfonso Delgado Álvarez, porque a pesar de llevar poco tiempo juntos, logró ganarse un lugar relevante en mi día a día, por aportar la serenidad y calma necesarias en estos últimos meses.

A mi familia, por inculcarme los valores de trabajo, dedicación y perseverancia que me han servido de guía en todo este tiempo. En especial a María y Miguel, mis padres; a mi hermana Nadia, mi sobrina Delfina, Cristina, Ricardo, Yanina y Fidel, quienes me apoyaron siempre en cada nuevo desafío que emprendí y confiaron en mí desde el primer momento, por su amor e incondicionalidad. Dedico también unas líneas muy especiales a mi abuela Esther, quien me enseñó desde muy pequeña el amor por el conocimiento y que cuanto más diverso y profundo es, más enriquece y aporta.

Comencé estos agradecimientos señalando que a mis diecinueve años la vida me dio el mayor incentivo para buscar la mejor versión de mi misma. Ese incentivo tiene un nombre y es Fran, mi hijo, quien se ha convertido en mi esencia y mi vida. Los resultados de esta búsqueda solo tienen un reconocimiento válido para mí, y no es más que ver el orgullo de este logro reflejado en el brillo de sus ojos. Espero haberlo conseguido. Sé que la vida tiene reservada para él grandes oportunidades y desafíos, que enfrentará con la misma firmeza y convicción que sus padres y antepasados.

Todo este trabajo no habría sido posible sin la persona que más me conoce, que siempre ha estado a mi lado, que ha creído siempre de forma incondicional en mí, que representa el refugio en los momentos más

tormentosos y que disfruta de mis logros como si fueran propios. A ti, Yamil, gracias por enseñarme a ser mejor día a día y ayudarme a enfrentar la vida sin miedos. Esto no habría sido posible sin ti a mi lado.

Finalmente, quiero agradecer muy especialmente a todos los pacientes incluidos en el estudio y a sus familiares, por ser la mejor representación de que no hay obstáculos en la vida que no puedan ser enfrentados con convicción. Gracias por apoyar este trabajo y por servir de estímulo y aliciente para seguir avanzando en el conocimiento de esta enfermedad.

Quiero cerrar estas líneas con una frase que, alguien muy importante para mí, me dijo durante uno de esos días donde todo se ve un poco más lejano y difícil: *"lucha, no bajes los brazos, piensa que sólo dos generaciones atrás, tu abuelo Cipriano llegaba a la Argentina huyendo de Europa, escapando de la guerra y del hambre, sin siquiera saber hablar español, sin conocer nada de ese nuevo destino y movido solamente por el deseo de encontrar un futuro mejor para su descendencia. Ahora vos, su nieta, estás luchando por alcanzar uno de los mayores reconocimientos académicos que puede otorgar una universidad europea. En este logro estás honrando su lucha y coraje"*.

A todos ellos, gracias.

Lista de abreviaturas y acrónimos

APP

por las siglas en inglés de *Amyloid Precursor Protein* (Proteína Precursora Amiloide)

AR-BVL

por las siglas en inglés de *Annual Rate Brain Volume Loss* (Índice anual de pérdida de volumen cerebral)

BDI

por las siglas en inglés de *The Beck Depression Inventory*

BNT

por las siglas en inglés de *Boston Naming Test*

BOC

Bandas Oligoclonales

CIS

por las siglas en inglés de *Clinically Isolated Syndrome*

CMH

Complejo Mayor de Histocompatibilidad

CS

Controles Sanos

DWM

por las siglas en inglés de *Damaged White Matter* (Sustancia Blanca Dañada)

EDSS

por las siglas en inglés de *Expanded Disability Status Scale*

EM

Esclerosis Múltiple

EMA

por las siglas en inglés de *European Medicines Agency* (Agencia Europea de Medicamentos)

EMPP

Esclerosis Múltiple Primaria Progresiva

EMRR

Esclerosis Múltiple Recurrente Remitente

EMSP

Esclerosis Múltiple Secundaria Progresiva

FCRO

Figura Compleja de Rey-Osterrieth

FCSRT

por las siglas en inglés de *Free and Cued Selective Reminding Test*

FDG

2-deoxi-2-[¹⁸F]fluoro-D-glucosa

FDR

por las siglas en inglés de *False Discovery Rate*

FSL

por las siglas en inglés de *fMRIB Software Library*

FSS

por las siglas en inglés de *Fatigue Severity Scale* (Escala de severidad de fatiga)

GM

por las siglas en inglés de *Grey Matter* (Sustancia Gris)

HLA

por las siglas en inglés de *Human Leukocyte Antigen*

IFN- β

Interferón-beta

IPS

por las siglas en inglés de *Information processing speed* (Velocidad de procesamiento)

JLO

por las siglas en inglés de *Judgment Line Orientation*

LCR

Líquido Cefalorraquídeo

LST

por las siglas en inglés de *Lesion Segmentation Tool*

NAWM

por las siglas en inglés de *Normal-Appearing White Matter* (Sustancia Blanca de Apariencia Normal)

NEDA

por las siglas en inglés de *No Evidence of Disease Activity* (Sin evidencia de actividad de la enfermedad)

NFL

Neurofilamentos

nGM

por las siglas en inglés de *Normalized Grey Matter* (Volumen de sustancia gris normalizado por el TIV)

nWM

por las siglas en inglés de *Normalized White Matter* (Volumen de sustancia blanca normalizada por el TIV)

OPCs

por las siglas en inglés de *Oligodendrocyte Progenitor Cells* (Células Precursoras de Oligodendrocitos)

PASAT

por las siglas en inglés de *Paced Auditory Serial Addition Test*

PCVC

Porcentaje de Cambio del Volumen Cerebral

PET

Tomografía por Emisión de Positrones

PIB

^{11}C -2-(4'- methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole

RM

Resonancia Magnética

ROC

por las siglas en inglés de *Receiver Operating Characteristic Curve*

ROI

por las siglas en inglés de *Region of Interest* (Región de Interés)

SDMT

por las siglas en inglés de *Symbol Digit Modalities Test*

SIENA

por las siglas en inglés de *Structural Imaging Evaluation using Normalization of Atrophy*

SIENAX

por las siglas en inglés de *Structural Imaging Evaluation using normalization of Atrophy Cross-Sectional*

SNC

Sistema Nervioso Central

SPM

por las siglas en inglés de *Statistical Parametric Mapping*

SUVRc

por las siglas en inglés de *Standardised Uptake Value Relative to the Cerebellar Reference Region of Interest* (Valor estandarizado de captación relativo al cerebelo como región de referencia)

TIV

por las siglas en inglés de *Total Intracranial Volume* (Volumen Cerebral Total)

TMT

por las siglas en inglés de *Trail Making Test*

ToL

Torres de Londres

TSPO

por las siglas en inglés de *The 18-kDa translocator protein* (Proteína Translocadora 18-kDa)

WM

por las siglas en inglés de *White Matter* (Sustancia Blanca)

Lista de Tablas

1.1. Principales baterías neuropsicológicas utilizadas en EM	17
1.2. Criterios diagnósticos McDonald 2017	19
1.3. Criterios para definir NEDA	26
1.4. Estudio de la mielina por RM	37
1.5. Trazadores amiloides. Productos químicos de origen. . .	46
3.1. Criterios de inclusión y exclusión	57
3.2. Criterios para establecer dominios cognitivos alterados .	62
3.3. Protocolo de adquisición de las imágenes PET-TAC	70
4.1. Características demográficas y clínicas.	80
4.2. Evaluación cognitiva de la cohorte de estudio	87
4.3. Dominios cognitivos alterados según forma clínica de EM.	90

4.4. Datos clínicos y demográficos según el estado cognitivo .	90
4.5. Volúmenes cerebrales según el estado cognitivo	95
4.6. Volúmenes cerebrales según el estado de fatiga	96
4.7. Datos de la PET amiloide según forma clínica de EM . .	98
4.8. Datos comparativos de la PET según el estado cognitivo .	99
4.9. Frecuencia de nuevos test cognitivos alterados	105
4.10. Estudio longitudinal por RM cerebral	107
4.11. Diferencias entre los pacientes con cambio significativo de la EDSS	109
4.12. Diferencias entre los pacientes con actividad y sin activi- dad de la enfermedad (NEDA-4).	110
4.13. Diferencias entre los pacientes con empeoramiento cogni- tivo y los casos cognitivamente estables.	112
4.14. Grupo recurrente remitente de EM. Diferencias entre los pacientes con empeoramiento cognitivo y los casos cog- nitivamente estables.	114
5.1. Alteración cognitiva en la EM, frecuencia por dominios cognitivos.	121

5.2. Resumen de estudios previos reportados en la bibliografía con PET amiloide en Esclerosis Múltiple	128
---	-----

Lista de Figuras

1.1. Línea temporal. Historia de la esclerosis múltiple.	3
1.2. Prevalencia mundial de la esclerosis múltiple	6
1.3. Fisiopatología de la esclerosis múltiple	7
1.4. Formas clínicas de presentación de la esclerosis múltiple	11
1.5. Principales baterías neuropsicológicas utilizadas en EM	15
1.6. Resonancia magnética en EM	21
1.7. Reporte de SIENAX	23
1.8. Desmielinización-remielinización en EM	34
1.9. Proceso de aniquilación y generación de fotones gamma .	44
1.10. Radiotrazadores amiloides fluorados.	47
1.11. PET amiloide con ^{18}F -Florbetabén en EM	51

3.1. Perfil neuropsicológico incluido en el protocolo	63
3.2. Segmentación de lesiones de sustancia blanca en RM . .	69
3.3. Preprocesado para el análisis de las neuroimágenes . . .	72
4.1. Edad y edad de inicio de la enfermedad.	78
4.2. Formas clínicas de EM	79
4.3. Tratamientos modificadores de la enfermedad	81
4.4. Edad de inicio de la enfermedad y EDSS en pacientes con EMRR	82
4.5. Edad de inicio de la enfermedad y EDSS de los pacientes con EMSP	83
4.6. Edad de inicio de la enfermedad y EDSS de los pacientes con EMPP	84
4.7. Años de escolaridad	85
4.8. Evaluación cognitiva basal	86
4.9. Frecuencia de depresión	91
4.10. Frecuencia de fatiga	92
4.11. Cambio de EDSS en el tiempo. NEDA-4	102

4.12. Tratamientos modificadores de la enfermedad, evaluación de seguimiento.	103
4.13. Frecuencia de empeoramiento cognitivo	104
4.14. Frecuencia de depresión en la evaluación de seguimiento	106
4.15. Curva COR	116
5.1. Imágenes co-registradas PET con ^{18}F -Florbetabén/RM . .	127
5.2. Resumen de resultados.	140
5.3. Hipótesis de captación de radiotrazadores amiloides en la sustancia blanca del SNC	143

Índice

Agradecimientos	vii
Lista de abreviaturas y acrónimos	xii
1. Introducción	1
1.1. Esclerosis Múltiple. Generalidades	1
1.2. Epidemiología	4
1.3. Fisiopatología	6
1.4. Características Clínicas y pronóstico	9
1.4.1. Formas clínicas de la enfermedad	9
1.4.2. Alteraciones cognitivas en EM	13
1.5. Diagnóstico	18
1.5.1. Criterios clínicos	18

1.5.2. Resonancia Magnética en EM	20
1.6. Tratamiento	24
1.6.1. Abordaje terapéutico	24
1.6.2. NEDA (<i>No Evidence of Disease Activity</i>)	25
1.7. Biomarcadores	27
1.7.1. Factores genéticos	28
1.7.2. Biomarcadores en líquido cefalorraquídeo y sangre	31
1.8. Desmielinización y remielinización	33
1.8.1. Generalidades	33
1.8.2. Neuroimágenes y remielinización	36
1.9. Tomografía por emisión de positrones	39
1.9.1. Características generales y su utilidad en diferentes enfermedades neurológicas	39
1.9.2. PET con radiotrazadores amiloide	45
1.9.3. Tomografía por emisión de positrones en EM	48
2. Hipótesis y objetivos	54
3. Materiales y métodos	56

3.1. Diseño de la investigación	56
3.2. Población y ámbito del estudio	56
3.3. Período de estudio	58
3.4. Protocolo de estudio	58
3.4.1. Al inicio del estudio	58
3.4.2. En el seguimiento	64
3.5. Resonancia Magnética	66
3.5.1. Adquisición de imagen	66
3.5.2. Preprocesamiento y análisis de la imagen de RM .	67
3.6. Tomografía por emisión de positrones	70
3.6.1. Adquisición de imagen	70
3.6.2. Preprocesamiento y análisis de la imagen PET . .	71
3.7. Análisis estadístico	73
3.8. Aspectos éticos	75
4. Resultados	77
4.1. Características clínicas, cognitivas y de neuroimagen . .	77
4.1.1. Características generales de la cohorte	77

4.1.2. Características del grupo con EMRR	82
4.1.3. Características del grupo con EMSP	83
4.1.4. Características del grupo con EMPP	84
4.1.5. Descripción de la evaluación cognitiva	85
4.1.6. Depresión y fatiga	91
4.1.7. Resonancia magnética cerebral	94
4.2. PET amiloide con radiotrazador ^{18}F florbetabén	96
4.2.1. Descripción general	96
4.2.2. Comparación entre EM y controles	97
4.2.3. Relación de los resultados de la PET amiloide con las características clínicas y cognitivas	98
4.2.4. Relación de los resultados de la PET amiloide con la RM cerebral	100
4.3. Estudio longitudinal. Clínico, cognitivo y RM	101
4.3.1. Evaluación longitudinal clínica	101
4.3.2. Evaluación longitudinal cognitiva	104
4.3.3. Evaluación longitudinal de fatiga y depresión . . .	106
4.3.4. Evaluación longitudinal de RM cerebral	107

4.4. Relación PET amiloide - Estudio longitudinal	108
4.4.1. PET amiloide y RM cerebral basal respecto al em- peoramiento clínico	108
4.4.2. PET amiloide y RM cerebral respecto al empeora- miento cognitivo	111
4.4.3. Correlación PET amiloide con los resultados del estudio longitudinal por RM	115
4.4.4. Modelo de predicción del empeoramiento cognitivo en pacientes con EM	115
5. Discusión	117
5.1. Características demográficas, clínicas y cognitivas basales	118
5.1.1. Evaluación clínica	118
5.1.2. Evaluación neuropsicológica, fatiga y depresión .	120
5.2. Resultados de los estudios de neuroimágenes basales . .	124
5.2.1. Resonancia magnética cerebral	124
5.2.2. PET amiloide con ^{18}F -florbetabén	126
5.3. Estudio longitudinal clínico, cognitivo y de RM	133
5.4. Relación PET amiloide - Estudio longitudinal	138

5.5. Consideraciones finales	141
5.6. Limitaciones del estudio	145
6. Conclusiones	147
Resumen	149
6.1. Introducción	149
6.2. Materiales y métodos	151
6.3. Resultados	151
6.4. Discusión	153
6.5. Conclusiones	154
Abstract	155
6.6. Introduction	155
6.7. Methods	157
6.8. Results	157
6.9. Discussion	159
6.10. Conclusions	160
Bibliografía	161

Capítulo 1

Introducción

1.1. Esclerosis Múltiple. Generalidades

La Esclerosis Múltiple (EM) es una enfermedad neurodegenerativa inflamatoria del sistema nervioso central que se caracteriza por la presencia de lesiones desmielinizantes en la sustancia blanca cerebral (Frieze, Schattling, & Fugger, 2014).

Algunas hipótesis sugieren que la EM apareció por primera vez en individuos escandinavos antes del siglo XI y fue luego diseminada en Europa por los vikingos (D. A. Compston, 1990). En 1824 Charles Prosper Ollivier d'Angers presentó el primer caso científico de esta enfermedad en el libro *"De la moelle épinière et de ses maladies"* (Ollivier, 1824). En 1838 Sir Robert Carswell, patólogo en hospitales de París y Lyon, describió áreas descoloridas en protuberancia y médula espinal y

realizó un atlas patológico sobre la EM titulado "*Pathological Anatomy: Illustrations of the Elementary Form of Disease*" (Carswell, 1838). Asimismo, y de forma casi simultánea, el patólogo francés Jean Cruveilhier realizó otro atlas de patología de la enfermedad, incorporando a él características clínicas (Cruveilhier, 1829).

Ya en 1849 Friedrich Theodor von Frerichs, patólogo alemán, reveló en forma concreta características clínicas y patológicas de la EM, como la forma de presentación clínica con exacerbaciones, recaída-remisión, y luego con una evolución progresiva, sugiriendo llamar a esta enfermedad "*Hernkleroses*" y fue considerado por muchos el padre de la concepción moderna de la EM (Frerichs, 1849).

Sin embargo, el término "*sclérose en plaques disséminées*" fue utilizado por primera vez en 1866 por Alfred Vulpian, neurólogo y patólogo del hospital de Pitié-Salpêtrière en París, Francia (Pearce, 2002). En 1868 Jean-Martin Charcot comienza a utilizar el término de una forma más simplificada, haciendo mención de este como "*sclérose en plaques*" (Charcot, 1868).

Hacia el final del siglo XIX Hammond, Wilksy y Osler realizaron las primeras publicaciones científicas utilizando el concepto *esclerosis múltiple*. Sin embargo, no fue hasta 1955, con la publicación de McAlpine Compston y Lumsden (Thompson RHS, 1955), cuando este término adquiere un uso más generalizado (figura 1.1).

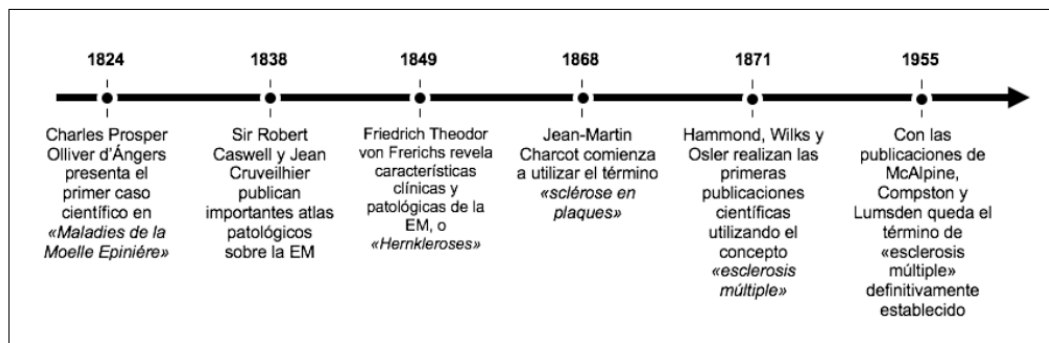


Figura 1.1: Línea temporal. Historia de la esclerosis múltiple.

Actualmente la EM es considerada una enfermedad poligénica en la que el impacto medioambiental, así como la presencia de ciertos antígenos endógenos desencadenan una respuesta inmunitaria descontrolada contra antígenos de la mielina, el axón, la neurona propiamente dicha y contra otras células del Sistema Nervioso Central (SNC) como la oligodendroglía, provocando las características lesiones inflamatorias, desmielinizantes y de daño axonal que caracterizan a la EM (Compston & Coles, 2008; Frohman, Racke, & Raine, 2006; Hauser & Oksenberg, 2006).

La EM es la segunda causa de discapacidad neurológica en adultos jóvenes. Si bien algunos pacientes presentan un curso más benigno de la enfermedad, la mayoría desarrolla a lo largo del tiempo un grado importante de discapacidad en su calidad de vida (Amatya, Khan, & Galea, 2019). Actualmente no existe un fármaco curativo de la EM, sin embargo, el avance en la investigación en los últimos años ha permitido el desarrollo de fármacos con un gran impacto en etapas tempranas de

la enfermedad.

En la actualidad, uno de los mayores retos consiste en identificar biomarcadores capaces de reconocer y predecir el curso de la enfermedad en el paciente individual, que podría permitir el uso de estrategias terapéuticas personalizadas.

1.2. Epidemiología

La edad de inicio de la EM se encuentra entre los 20 y 40 años de edad con un predominio en mujeres respecto a los hombres (ratio 2:1). Es una de las principales enfermedades neurológicas en adultos jóvenes en países occidentales y constituye la primera causa no traumática de discapacidad en adultos jóvenes en este grupo etario (*Compston & Coles, 2008; Filippi et al., 2018*).

En la década de los setenta, los primeros estudios de Kurtzke describen una distribución geográfica de la EM, identificando tres zonas principales de riesgo. La primera, denominada "zona de alto riesgo", cuando la prevalencia de casos era superior a 30/100.000 habitantes (Canadá, norte de Europa y de Estados Unidos); luego una "zona de riesgo medio", con una prevalencia entre 5 y 29 casos/100.000 habitantes (Australia, sur de Europa y de Estados Unidos), y por último una "zona de bajo riesgo", cuando la prevalencia era inferior a 5/100.000 habitantes (África, América Central y América del Sur), siguiendo un patrón latitudinal, con un riesgo mayor en las zonas más alejadas del ecuador (*Kurtzke,*

1975, 1977; Kurtzke, Beebe, & Norman, 1979).

Con el avance metodológico y el aumento en el número de los estudios epidemiológicos sobre EM, los valores de prevalencia que definían las zonas de riesgo descritas por Kurtzke debieron ser modificados y se redefinieron de acuerdo a nuevos valores: zonas con una prevalencia menor de 50 casos, entre 50 y 100 casos y más de 100 casos cada 100.000 habitantes (*Kurtzke, 1980*).

En los últimos treinta años se ha observado un aumento significativo de la incidencia y prevalencia de la EM en todas las regiones estudiadas. A pesar de que la distribución latitudinal sigue estando vigente, esta evidencia un menor impacto, emergiendo además algunas excepciones como Sicilia y Cerdeña con un riesgo alto, y las zonas nórdicas de los países escandinavos con un riesgo bajo (*Alonso & Hernan, 2008; Harirchian, Fatehi, Sarraf, Honarvar, & Bitarafan, 2018; Koch-Henriksen & Sorensen, 2010, 2011; Rosati, 2001; Simpson, Blizzard, Otahal, Van der Mei, & Taylor, 2011; Thompson, Baranzini, Geurts, Hemmer, & Ciccarelli, 2018*) (figura 1.2).

En España se han realizado diferentes estudios respecto a la prevalencia e incidencia de la enfermedad, con datos muy heterogéneos. Los últimos estudios publicados evidencian una prevalencia entre 47,7 y 79 casos por cada 100.000 habitantes, y una incidencia de 2,2 a 5,3 nuevos casos por cada 100.000 habitantes/año. En consecuencia, España se encuentra clasificada para esta enfermedad en la zona de riesgo medio-alto (*Bartulos Iglesias, Marzo Sola, Estrella Ruiz, & Bravo Anguiano,*

2015; de Sa, 2010; Fernandez et al., 2012; Matías-Guiu, Bolumar, et al., 1990; Matías-Guiu, Molto, et al., 1990; Villar-Quiles et al., 2016).

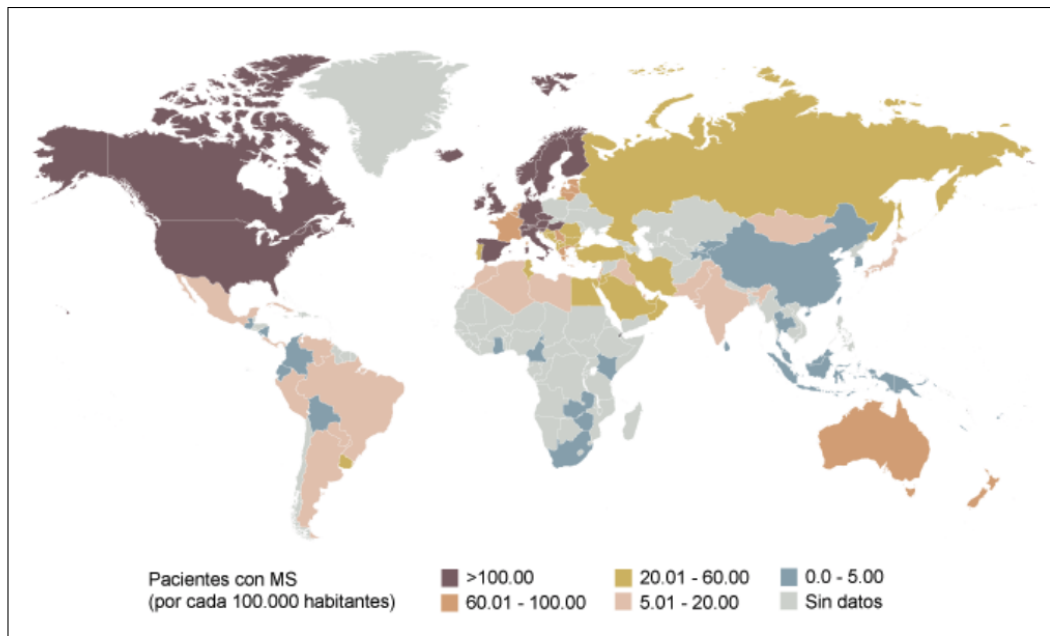


Figura 1.2: Prevalencia mundial de Esclerosis Múltiple. Se observa una prevalencia mayor en los países de mayor latitud y en los países occidentales. Figura modificada del (*Múltiple Sclerosis International Federation. Atlas of MS. 2013.*)

1.3. Fisiopatología

La EM es una enfermedad crónica, inflamatoria y degenerativa del SNC. Su causa es desconocida, aunque se conocen múltiples factores genéticos y ambientales involucrados. Se caracteriza por placas de desmielinización, pérdida de oligodendrocitos y astrogliosis. Es una enfermedad compleja que involucra tanto a la inmunidad innata como a la adaptativa (Dutta & Trapp, 2014; Filippi et al., 2018; Friesse et al., 2014)

(figura 1.3).

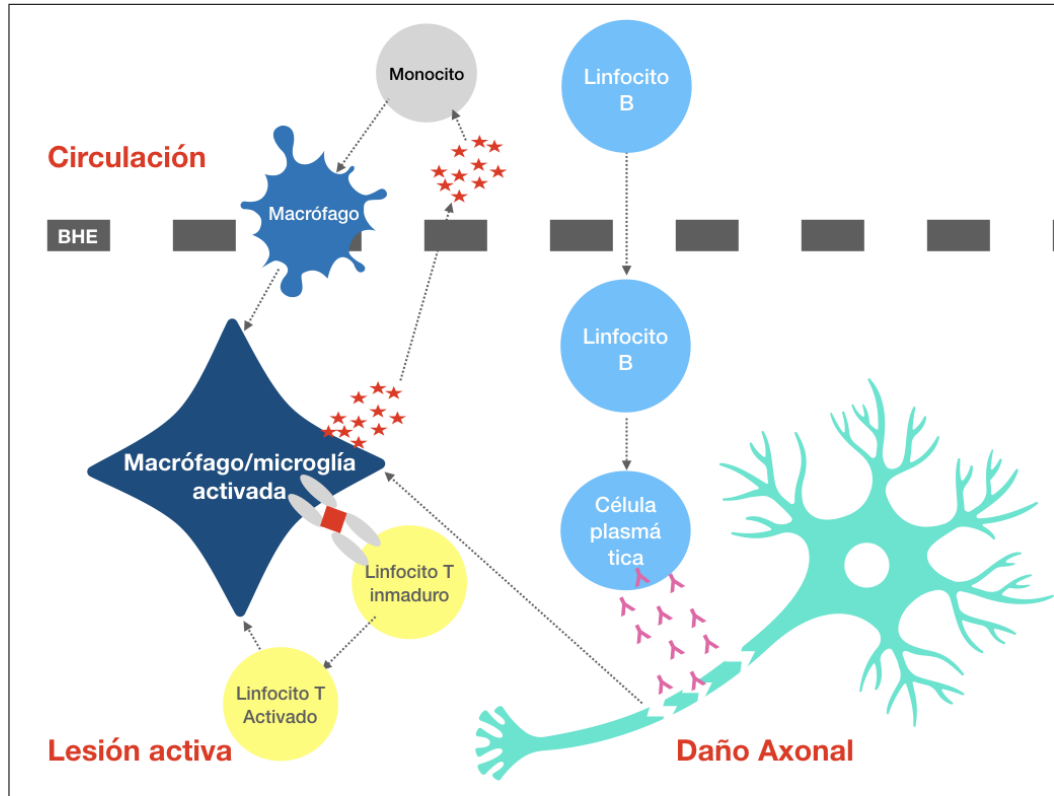


Figura 1.3: Fisiopatología de la Esclerosis Múltiple. En la EM la intervención de las células B, T e inmunidad innata, desencadenan una respuesta inflamatoria que provoca desmielinización y daño axonal. **BHE:** Barrera Hematoencefálica.

Tradicionalmente se han presentado a las células T CD4+ como las principales relacionadas con esta enfermedad. Sin embargo, en los últimos años esta idea se ha reformulado y se evidencia la importancia de otras células inmunitarias en la fisiopatología de la EM, como por ejemplo: las células T CD8+, otro tipo de células T y B, así como también la inmunidad innata (Filippi et al., 2018; Sospedra & Martin, 2005).

La activación de los linfocitos T autorreactivos a nivel periférico po-

dría deberse a dos posibles causas. Una de ellas es el mimetismo molecular, mediado por un epítipo común entre un patógeno y un antígeno propio, desencadenando una respuesta inmunitaria cruzada. Por otro lado, otra de las posibles explicaciones a esta respuesta es la activación secundaria de las células inmunitarias por un patógeno externo, lo que favorece la instauración de un ambiente proinflamatorio. Cualquiera de las dos opciones produce un aumento de las citoquinas proinflamatorias y de las moléculas de adhesión celular, que a su vez favorecen la infiltración de células inmunes al SNC a través de la barrera hematoencefálica (*Minagar & Alexander, 2003; Ortiz et al., 2014*).

En el SNC, las células CD4+ autorreactivas activan células de la microglía y astrocitos que ejercen de células presentadoras de antígenos y activan a las células CD4+ infiltrantes, desencadenando una respuesta autoinmune en la que intervienen células CD8+ citotóxicas, células B y macrófagos. Este proceso produce citocinas proinflamatorias que generan daño en oligodendrocitos y desmielinización (*Dendrou, Fugger, & Friese, 2015; Kaskow & Baecher-Allan, 2018; Kitz, Singer, & Hafler, 2018; Lassmann, 2018; Li, Patterson, & Bar-Or, 2018*).

El proceso de desmielinización y remielinización está producido por progenitores endógenos de oligodendrocitos. Éste, a su vez, está mediado por citoquinas y factores de crecimiento, liberados por la microglía y astrocitos reactivos en respuesta a un proceso inflamatorio agudo. El conjunto de estas acciones favorece la evolución en brotes, característica de la forma recurrente remitente de la enfermedad (*Cunnusamy et al.,*

2014; Dulamea, 2017; Namdar, Nikbin, Ghabaee, Bayati, & Izad, 2010; Stilund et al., 2015).

No obstante, el daño axonal característico de la EM también puede presentarse desde etapas tempranas y de forma independiente a la desmielinización, siendo el principal causante de las formas clínicas progresivas (Bruck, 2005; Kuhlmann, Lingfeld, Bitsch, Schuchardt, & Bruck, 2002; Mahad, Trapp, & Lassmann, 2015; Petrova, Carassiti, Altmann, Baker, & Schmierer, 2018; Prineas et al., 2001; Trentini et al., 2014). Este daño axonal se puede observar tanto en placas activas de desmielinización, así como en placas inactivas, siendo el responsable de la discapacidad irreversible en los pacientes con EM (Sadaba et al., 2012).

1.4. Características Clínicas y pronóstico

1.4.1. Formas clínicas de la enfermedad

La EM es una enfermedad muy heterogénea, con un curso variable entre los diferentes pacientes afectados. Tiene predominio en el sexo femenino (2:1) y suele debutar antes de los 30 años de edad (Filippi et al., 2018; Lublin et al., 2016).

La primera manifestación clínica de la enfermedad suele ser, en un 85 % de los casos, un síndrome clínico aislado o *Clinically Isolated Syndrome* (CIS), que identifica al primer evento clínico reversible con una

duración de al menos 24 horas, sugestivo de enfermedad inflamatoria - desmielinizante, y sin otras posibles causas que lo justifiquen (*Eriksson, Andersen, & Runmarker, 2003; Miller, Chard, & Ciccarelli, 2012; Mowry et al., 2009*).

La evolución a partir del CIS es muy variable, siendo la forma más frecuente de presentación la recurrente remitente (EMRR) (85 %), con brotes caracterizados por signos clínicos de disfunción neurológica que pueden ser secundarios a disfunción en la vía visual, de distintas regiones cerebrales o medulares. En esta forma clínica los pacientes presentan una recuperación total o parcial de los déficit neurológicos. Sin embargo, puede persistir un déficit secundario a un brote, pero esta discapacidad por definición debe ser estable y no progresar en el tiempo (*Brownlee, Hardy, Fazekas, & Miller, 2017; Kuhle et al., 2015*).

Con el transcurrir del tiempo, aproximadamente un 65 % de los pacientes con forma recurrente remitente evoluciona a una forma progresiva de la enfermedad, lo que denota al menos una progresión de la discapacidad continua durante 6 a 12 meses. Esta forma de presentación clínica se denomina secundaria progresiva (EMSP) (*Filippi, Bar-Or, et al., 2018; Filippi, Preziosa, et al., 2018; Krieger, Cook, De Nino, & Fletcher, 2016; F. D. Lublin et al., 2014*).

Finalmente, debemos mencionar la forma clínica primaria progresiva (EMPP) que representa a un 10-15 % de los pacientes con EM y que evidencian una progresión de la enfermedad desde el inicio de la misma. Este grupo de pacientes suele presentar un debut más tardío, en

torno a los 40 años de edad (*Abdelhak, Weber, & Tumani, 2017; Zeydan & Kantarci, 2018*) (figura 1.4).

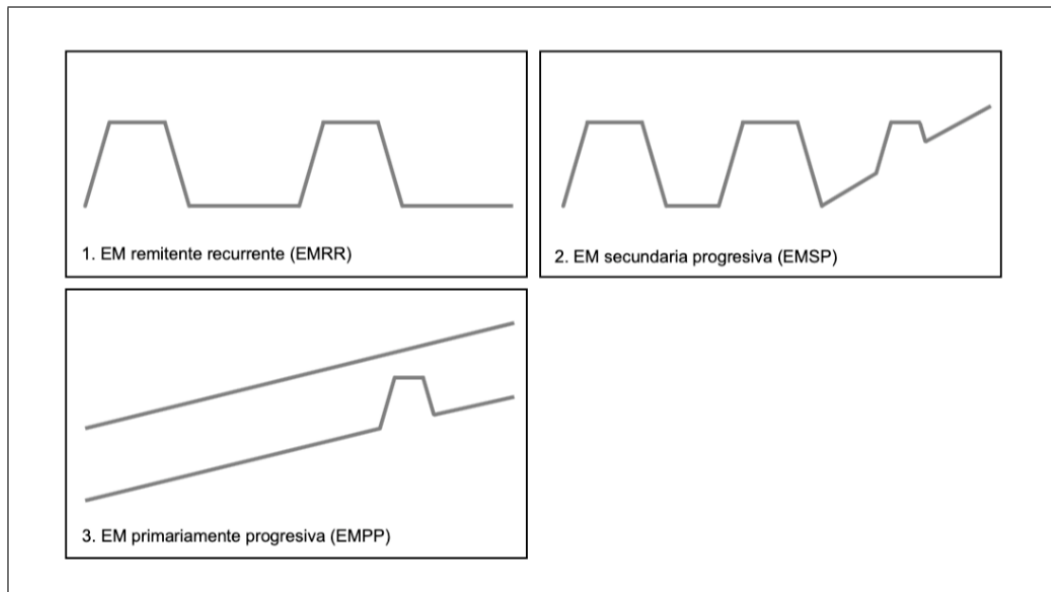


Figura 1.4: Formas clínicas de presentación de la Esclerosis Múltiple.

La necesidad de identificar factores pronósticos de la evolución de la EM es de fundamental importancia, debido a que se trata de una de las primeras causas de discapacidad en el adulto joven. Así los pacientes que debutan con síndrome clínicamente aislado (SCA) en edades más tempranas, presentan un riesgo mayor de convertir a EM, pero con menor progresión en cuanto a la discapacidad, no observándose diferencias entre género. Asimismo, se han descrito otros aspectos que podrían influir en un mayor riesgo de conversión, como son distintas modalidades de presentación clínica, la presencia de bandas oligoclonales en el líquido cefalorraquídeo o la presencia de más de 10 lesiones en resonancia magnética (*Degenhardt, Ramagopalan, Scalfari, & Ebers, 2009; Kuhle*

et al., 2015; Rahn et al., 2019; Wattjes et al., 2015).

De forma general, hay en la EM ciertos factores que se relacionan con una peor evolución de la enfermedad (*Tintore et al., 2015*), entre los cuales se encuentran:

- Edad de inicio superior a 40 años
- Sexo masculino
- Forma de inicio polisintomática
- Recuperación incompleta de los primeros brotes
- Alta tasa de brotes durante los primeros años con intervalo corto entre ellos
- Progresión rápida de la discapacidad los primeros años
- Síntomas iniciales de tronco, cerebelo o esfínteres
- Alteración cognitiva desde el inicio
- Carga lesional alta o lesiones captantes de gadolinio en la resonancia magnética desde el inicio

Como hemos mencionado anteriormente, un porcentaje elevado de pacientes con EMRR evolucionan al cabo de aproximadamente unos 10 años hacia una forma progresiva de la enfermedad, requiriendo apoyo para la deambulaci3n aproximadamente a los 15-20 años de evoluci3n.

Al progresar la discapacidad, una de las principales complicaciones a la que se deben enfrentar estos pacientes son las infecciones, que pueden incluso desencadenar en la muerte si no son tratadas de forma oportuna. La esperanza de vida es la misma que la población general, sin embargo, la muerte por causa infecciosa, cardiovascular o suicidio es superior ((Lunde, Assmus, Myhr, Bo, & Grytten, 2017; Scalfari et al., 2013).

1.4.2. Alteraciones cognitivas en pacientes con EM

La frecuencia de las alteraciones cognitivas en los pacientes con EM varía mucho en los distintos estudios reportados en la bibliografía. Estas diferencias probablemente son consecuencia de la heterogeneidad metodológica en los criterios diagnósticos, los protocolos de estudios neuropsicológicos y el diseño de los trabajos. Sin embargo, hay consenso respecto a que estas alteraciones se presentan con frecuencia en los pacientes con EM. Así, entre un 40 y 70 % de los casos, presenta algún grado de compromiso cognitivo que impacta directamente en la calidad de vida de los pacientes (*Chiaravalloti & DeLuca, 2008; Di Filippo, Portaccio, Mancini, & Calabresi, 2018; Fischer et al., 2014; Guimaraes & Sa, 2012*).

La mayoría de los estudios publicados hace referencia a un compromiso principal de la velocidad de procesamiento de la información (IPS, por sus siglas en inglés *Information Processing Speed*), aunque cada vez se conoce más acerca de la alteración de otras áreas cognitivas, como la

memoria y la atención (Costa, Genova, DeLuca, & Chiaravalloti, 2017; J. A. Matías-Guiu et al., 2017; Van Schependom et al., 2015).

Con el objetivo de evaluar el compromiso cognitivo en pacientes con EM se diseñaron distintos protocolos como la *Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests* (BRB-N) (Rao, 1991), la *Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis* (BICAMS) (Langdon et al., 2012) y la *Minimal Assessment of Cognitive Function in MS* (MACFIMS) (Benedict et al., 2002) (figura 1.5). Respecto a los test neuropsicológicos más utilizados observamos que el *Symbol Digit Modalities Test* (SDMT) (Van Schependom et al., 2014) y el *Paced Auditory Serial Addition Test* (PASAT) (Gronwall, 1977; Tombaugh, 2006) son las pruebas que destacan en los estudios de investigación y ensayos clínicos de esta enfermedad.

Estas baterías son útiles en la valoración de pacientes con EM en la práctica clínica, aunque los test incluidos no permiten una valoración global y completa de todos los dominios cognitivos. Esto pone en evidencia la necesidad, cada vez más acusada, de diseños de protocolos específicos de valoración cognitiva en pacientes con EM, así como su implementación en etapas tempranas de la enfermedad para poder definir el pronóstico y eventuales terapias que ayuden a mejorar la calidad de vida de los pacientes y familiares. Asimismo, es necesario disponer de herramientas de evaluación cognitiva que hayan sido normalizadas y adecuadamente validadas.

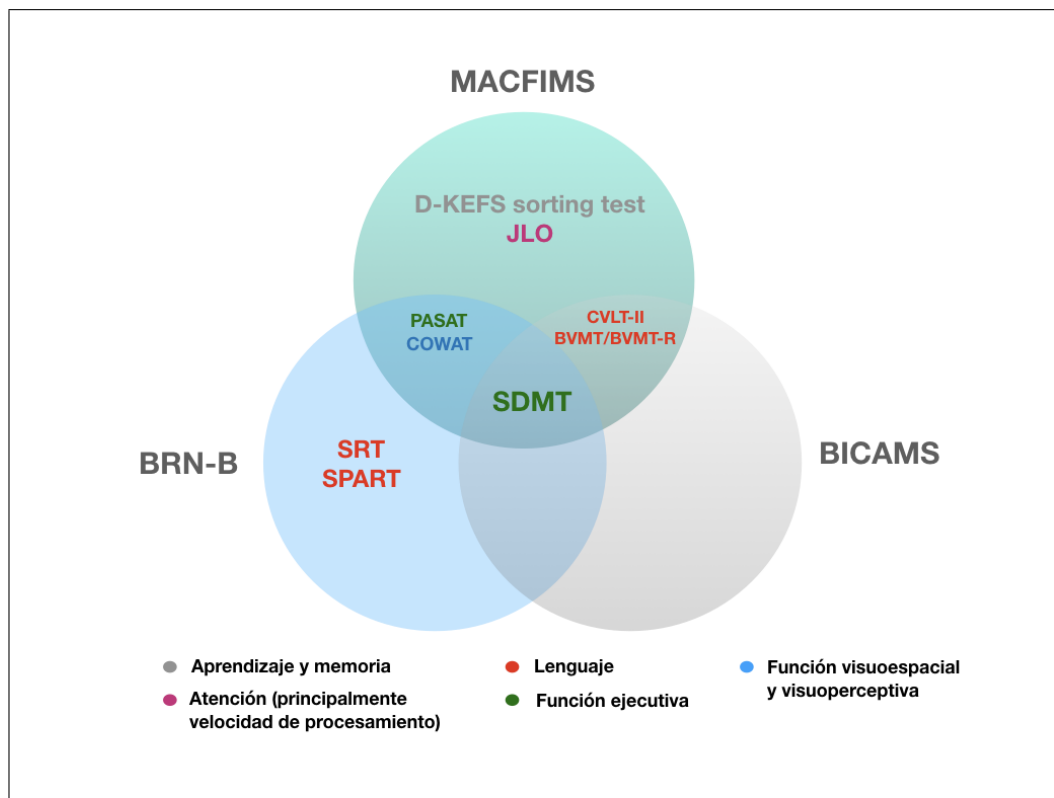


Figura 1.5: Características de las principales baterías neuropsicológicas utilizadas en EM. **BICAMS:** por las siglas en inglés de *Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis*; **COWAT:** por las siglas en inglés de *Controlled Oral Word Association Test*; **CVLT-II:** por las siglas en inglés de *California Verbal Learning Test second edition*; **D-KEFS:** por las siglas en inglés de *Delis-Kaplan Executive Function Scale*; **JLO:** por las siglas en inglés de *Judgment of Line Orientation*; **MACFIMS:** por las siglas en inglés de *Minimal Assessment of Cognitive Function in Multiple Sclerosis*; **PASAT:** por las siglas en inglés de *Paced Auditory Serial Addition Test*; **SDMT:** por las siglas en inglés de *Symbol Digit Modalities Test*; **SRT:** por las siglas en inglés de *Spatial Recall Test*.

En nuestro país, los estudios de validación en EM han sido escasos o en muestras pequeñas. Sin embargo, recientemente nuestro grupo ha publicado un trabajo donde se estudia una amplia cohorte de pacientes con EM mediante un protocolo extenso de test neuropsicológicos que incluye gran parte de los test incluidos en el proyecto de connormalización NEURONORMA, que es el principal estudio de normalización de instrumentos neuropsicológicos realizados en nuestro país (*Peña-Casanova et al., 2009; Peña-Casanova et al., 2012*).

Esta batería, además, proporciona una evaluación más completa de los diferentes dominios cognitivos (tabla 1.1). En dicho estudio se evidencia una frecuencia de deterioro cognitivo del 41,50 %, mientras que los únicos factores independientemente asociados fueron el grado de discapacidad y el nivel educativo. Nuestros resultados sugieren que el rendimiento cognitivo en la EM se describe mediante múltiples dominios cognitivos y perfiles. Un primer componente que incluía la atención y el funcionamiento básico del ejecutivo supuso el mayor porcentaje de la varianza (32 %), mientras que otros componentes representaban un 4-8 % cada uno (*J. A. Matías-Guiu et al., 2017*).

Tabla 1.1: Tabla comparativa de las principales baterías neuropsicológicas utilizadas en EM. **BICAMS:** *Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis*; **BNT:** *Boston Naming Test*; **BRN-B:** *Brief Repeatable Neuropsychological Battery*; **BVMT-R:** *Brief Visuospatial Memory Test Revised*; **CO-WAT:** *Controlled Oral Word Association Test*; **CVLT-II:** *California Verbal Learning Test second edition*; **D-KEFS:** *Delis-Kaplan Executive Function Scale*; **FCRO:** *Figura Compleja de Rey-Osterrieth*; **FCSRT:** *Free and Cued Selective Reminding Test*; **JLO:** *Judgment of Line Orientation*; **MACFIMS:** *Minimal Assessment of Cognitive Function in Multiple Sclerosis*; **PASAT:** *Paced Auditory Serial Addition Test*; **SDMT:** *Symbol Digit Modalities Test*; **SPART:** *Spatial Recall Test*; **SRT:** *Selective Reminding Test*; **TMT:** *Trail Making Test*; **ToL:** *Torres de Londres*.

Dominios cognitivos	Principales baterías neuropsicológicas usadas en EM			
	BRN-B	MACFIMS	BiCAMS	NEURONORMA
Aprendizaje y memoria	SRT, SPART	CVLT-II, BVMTR	CVLT-II, BVMTR	FCSRT, FCRO
Atención (principalmente velocidad de procesamiento)	PASAT, SDMT	PASAT, SDMT	SDMT	SDMT, TMT, Span verbal, Span visual, Stroop
Lenguaje	-	-	-	BNT
Función ejecutiva	COWAT	D-KEFS sorting test, COWAT	-	ToL, Fluencia formal y categorial
Función visuoespacial y visuoperceptiva	-	JLO	-	JLO, VOSP, FCRO

1.5. Diagnóstico

1.5.1. Criterios clínicos

El diagnóstico de la EM se fundamenta en la valoración clínica neurológica y en pruebas complementarias, especialmente la resonancia magnética (RM), que permite demostrar la diseminación de lesiones en tiempo y espacio. No obstante, es de particular importancia desestimar otras posibles causas de estas lesiones.

Los primeros criterios clínicos aceptados fueron los propuestos por Poser en 1983, basados fundamentalmente en la evidencia clínica, la presencia de bandas oligoclonales en líquido cefalorraquídeo, los resultados de potenciales evocados y en menor medida los hallazgos en estudios de neuroimágenes (*Poser et al., 1983*). Sin embargo, la importancia creciente de la RM en el diagnóstico de la EM evidenció la necesidad de establecer nuevos criterios. Así, en 2001 surgen los primeros criterios de McDonald que le otorgan mayor relevancia a los hallazgos en la RM (*McDonald et al., 2001*). En 2005, 2010 y 2017 el *International Panel on Multiple Sclerosis Diagnosis* publicó revisiones de estos criterios para hacerlos más sencillos, sin perder sensibilidad ni especificidad en el diagnóstico.

La última actualización de los criterios de McDonald de 2017 pretende facilitar el diagnóstico temprano en aquellos casos probables de EM no diagnosticados de acuerdo a los criterios McDonald de 2010. Asimismo,

mo, buscan preservar la especificidad de los criterios McDonald 2010 y reducir la frecuencia de diagnósticos erróneos (*Polman et al., 2011; Polman et al., 2005; Thompson, Banwell, et al., 2018; Thompson, Baranzini, et al., 2018*) (tabla 1.2).

Tabla 1.2: Criterios diagnósticos *McDonald 2017*. Se diagnostica EM si se han descartado otras posibles causas de la clínica evidenciada por el paciente y se cumplen los criterios de *McDonald 2017*. Sin embargo, se establece como EM posible aquellos casos con SCA, pero en los que los criterios McDonald 2017 no se cumplen en forma completa. Los criterios de RM para diseminación en espacio se puede demostrar por una o más lesiones hiperintensas en T2 en regiones periventricular, cortical, yuxtacortical o infratentorial. Se establece diseminación en el tiempo a la presencia simultánea de lesiones reforzadas y no reforzadas con gadolinio en cualquier momento o mediante una nueva lesión hiperintensa en T2 o reforzada con gadolinio en la RM de seguimiento.

	Número de lesiones con evidencia clínica objetiva	Datos adicionales necesarios para el diagnóstico
≥ 2 ataques clínicos	≥ 2	Ninguno
≥ 2 ataques clínicos	1 (antecedente de brote previo con evidencia de lesión en una región distinta)	Ninguno
≥ 2 ataques clínicos	1	Diseminación en espacio
1 ataque clínico	1	Diseminación en tiempo o bandas oligoclonales en LCR
1 ataque clínico	1	Diseminación en espacio y diseminación en tiempo o bandas oligoclonales en LCR

1.5.2. Resonancia Magnética en EM

La RM es la técnica más empleada en el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con EM. Permite detectar con gran sensibilidad las lesiones desmielinizantes, y también evaluar el grado de atrofia cerebral. Sin embargo, hay algunos aspectos importantes de la fisiopatología de la enfermedad que no han sido posible evaluar mediante RM, como el grado de desmielinización/remielinización ((*Hartley, Altowaijri, & Bourdette, 2014; Rovira, 2001*)).

Las lesiones desmielinizantes en el SNC se muestran hiperintensas en la secuencia T2 y densidad protónica, pero estas características no son específicas de la EM, ya que la mayoría de las lesiones desmielinizantes, cualquiera sea la causa desencadenante, se presentan en RM de igual manera. No obstante, en la EM la localización de las lesiones suele ser en un eje mayor perpendicular a los ventrículos laterales (dedos de Dawson), periventriculares, cuerpo calloso, sustancia blanca yuxtacortical y parénquima infratentorial (incluyendo médula espinal) (*Fazekas et al., 1988; Offenbacher et al., 1993; Tas et al., 1995*) (figura 1.6).

Asimismo, las características de las lesiones en RM nos permiten identificar si se tratan de lesiones agudas relacionadas al proceso inflamatorio característico de etapas tempranas de la enfermedad o crónicas asociadas a pérdida tisular. Un 10 a 20 % de las lesiones hiperintensas observadas en la secuencia T2 de RM se evidencian hipointensas en T1. El grado de hipointesidad de estas lesiones se relaciona directamente

con la severidad del daño tisular y se presentan con mayor frecuencia en la EMSP (Tam, Traboulsee, Riddehough, Sheikhzadeh, & Li, 2011).

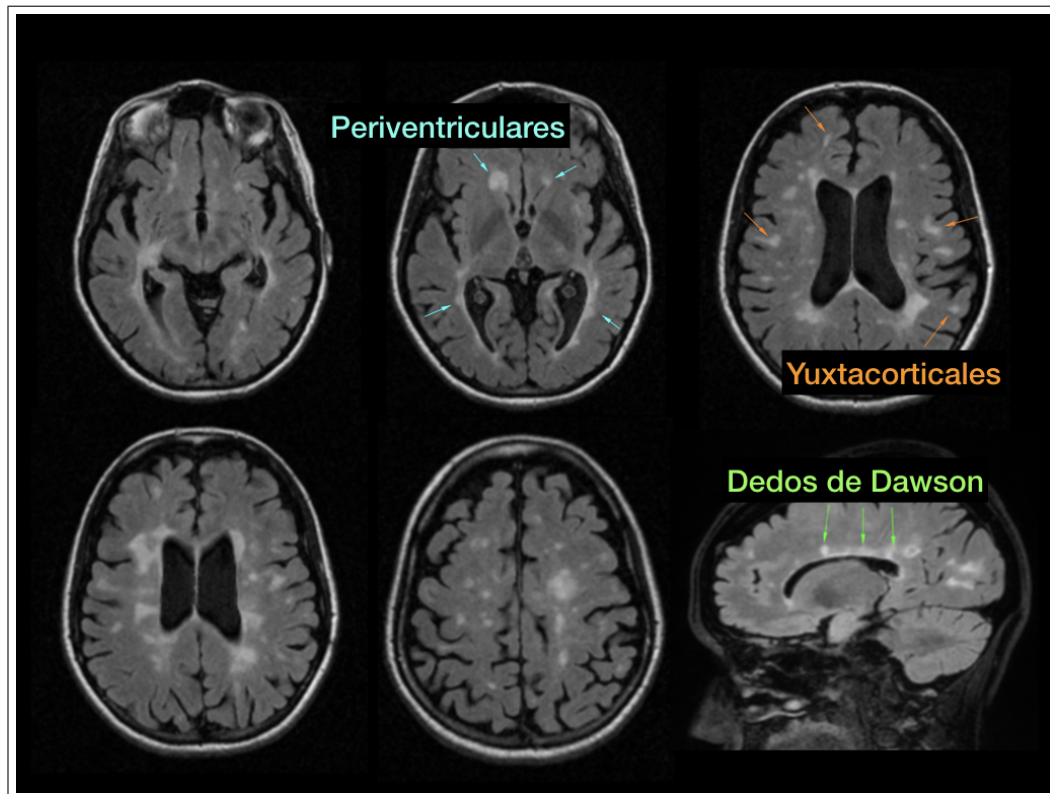


Figura 1.6: Resonancia magnética en Esclerosis Múltiple. Paciente con EMRR de 47 años de edad y 12 años de evolución de la enfermedad con lesiones hiperintensas en la secuencia de recuperación de la inversión a los fluidos atenuada en T2 (FLAIR) periventriculares, yuxtacorticales y en Dedos de Dawson.

Por otro lado, la RM nos permite evaluar los volúmenes cerebrales en los pacientes con EM. Actualmente se dispone de distintas técnicas que permiten un análisis cuantitativo de los mismos. De acuerdo al grado de intervención del operador que lleva a cabo el análisis podemos clasificarlas en manuales, automáticas o semiautomáticas. Las técnicas manuales, al ser totalmente dependientes del operador y pre-

sentar posibles sesgos y dificultades a la hora de reproducir el análisis, ven su uso cada vez más limitado. En los últimos años las técnicas de volumetría más utilizadas son las semiautomáticas y automáticas, que dependen menos del operador y alcanzan gran reproducibilidad y fiabilidad (*Bermel & Bakshi, 2006; De Stefano et al., 2016; Miller, Barkhof, Frank, Parker, & Thompson, 2002*).

Las técnicas de análisis volumétrico pueden clasificarse de acuerdo al método empleado, como por ejemplo las de segmentación (sobre todo utilizadas en estudios transversales), que permiten calcular el volumen cerebral y regional en un momento determinado.

Entre ellas podemos destacar las que usan *Statistical Parametric Mapping* (SPM) o el *Structural Imaging Evaluation, using normalization of atrophy Cross-Sectional* (SIENAX) (figura 1.7) dentro de la librería FSL.

Por otra parte, también se encuentran disponibles las técnicas basadas en el registro (mayormente utilizadas en estudios longitudinales), que permiten calcular el cambio en el volumen entre dos puntos. Entre ellas destaca la *Structural Imaging Evaluation, using Normalization of atrophy* (SIENA) (*Anderson, Fox, & Miller, 2006; De Stefano et al., 2010; De Stefano et al., 2016; Filippi, 2015; Zivadinov et al., 2005*).

La medida de los volúmenes cerebrales tiene gran relevancia en los pacientes con EM. Estudios previos han conseguido demostrar la relación entre estos volúmenes y la progresión en el tiempo de la discapaci-

dad neurológica, como así también la eficacia terapéutica a la que se ha sometido al paciente. Se considera por lo tanto una medida adecuada para evaluar la progresión a lo largo del tiempo.

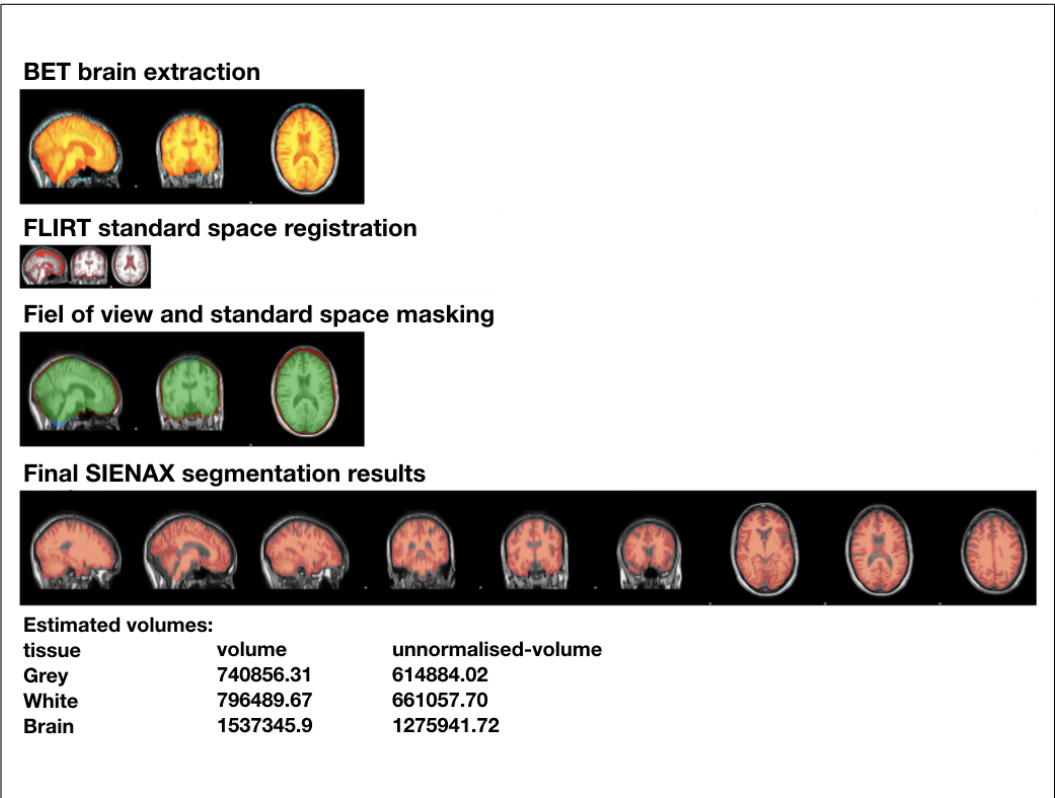


Figura 1.7: Reporte SIENAX. Análisis volumétrico de una RM cerebral de un paciente con EM.

1.6. Tratamiento

1.6.1. Abordaje terapéutico

El abordaje terapéutico de la EM está formado por tres grandes pilares: en primer lugar, el tratamiento específico de los brotes mediante el uso de fármacos antiinflamatorios -como los corticoides-; en segundo lugar, el tratamiento modificador del curso de la enfermedad, cuyo objetivo es reducir la tasa de brotes, la progresión de la discapacidad y la acumulación de lesiones en RM; y, por último, el tratamiento sintomático (*Filippini et al., 2013; Rae-Grant et al., 2018*).

El interferón-beta (IFN-b) fue el primero en demostrar su utilidad como tratamiento modificador de la enfermedad. Los tratamientos modificadores de la EM aprobados por la *European Medicines Agency* (EMA) (*European public assessment reports: European Medicines Agency*) son el acetato de glatirámico, dimetilfumarato, IFN-1a, IFN-1b, IFN-1a pegilado, teriflunomida, fingolimod, mitoxantrona, natalizumab, alemtuzumab, daclizumab, ocrelizumab. Estos tratamientos han demostrado mayor efectividad en la reducción de la actividad inflamatoria aguda y en la discapacidad a largo plazo, especialmente si se inicia en etapas muy tempranas de la enfermedad.

Debido a la gran oferta de tratamientos modificadores de la enfermedad se pone en evidencia, cada vez con mayor urgencia, la necesidad de encontrar biomarcadores que permitan identificar distintos perfiles

de pacientes para personalizar su tratamiento y obtener la mejor respuesta para cada uno de ellos.

1.6.2. Nueva estrategia de tratamiento, NEDA (*No Evidence of Disease Activity*)

La disponibilidad de un mayor número de opciones terapéuticas con distintos grados de agresividad expuso la necesidad de evaluar con mayor precisión y efectividad la respuesta de los pacientes con EM a los distintos tratamientos modificadores de la enfermedad. Sin embargo, a lo largo de la historia los criterios utilizados para establecer la presencia o ausencia de actividad en la EM han sido muy heterogéneos entre los distintos estudios realizados.

En 2009 Havrdova y colaboradores utilizaron por primera vez el término "libres de actividad de la enfermedad", considerando dentro de esta definición aquellos pacientes sin brotes nuevos, ni progresión de la discapacidad mediante *Expanded Disability Status Scale* (EDSS), y ausencia de lesiones nuevas en la RM cerebral (*Havrdova et al., 2009*). Posteriormente, surgió el concepto "sin evidencia de actividad" *NEDA* intentando incorporar otros aspectos además de los brotes, la EDSS y las nuevas lesiones en RM, como por ejemplo la volumetría cerebral, la valoración cognitiva de los pacientes, fatiga, escalas de calidad de vida entre otras. Esto tenía como objetivo no sólo representar un indicador de eficacia de los distintos tratamientos sino también un posible indica-

dor de fracaso terapéutico (Lu et al., 2018; Stangel, Penner, Kallmann, Lukas, & Kieseier, 2015).

En la tabla 1.3 se puede observar la evolución a lo largo del tiempo de los criterios para definir NEDA con la incorporación progresiva de distintos parámetros obtenidos de la evaluación de los pacientes con EM (tabla 1.3).

Tabla 1.3: Evolución en el tiempo de los criterios para definir NEDA. **AR-BVL:** *Annual Rate Brain Volume Loss*: $(PCVC/100+1)^{(365.25/days)-1} \times 100$; **PCVC:** Porcentaje de Cambio de Volumen Cerebral.

NEDA-3	Sin evidencia de brotes + No progresión en la EDSS (definido como un aumento en la puntuación de EDSS de 1,5 puntos a partir de una puntuación base entre 0 y 1 punto, 1 punto a partir de una puntuación de base de 1 o más, o de 0,5 puntos a partir de una puntuación de base de más de 5) + No actividad en RM (definido como lesiones nuevas en T2 o gadolinio positivas)
NEDA-4	NEDA-3 + No aumento de atrofia cerebral en RM (considerando media de AR-BVL inferior al 0,4 %)
NEDA-5	NEDA-4 + Neurofilamentos en LCR

A pesar de que el NEDA constituye una herramienta útil en la evaluación de los pacientes con EM, presenta numerosas limitaciones en la definición de progresión en cada uno de los componentes evaluados. Entre ellos cabe mencionar el tiempo necesario para establecer progresión clínica, la variabilidad inter-evaluador de la EDSS, la interpretación de los cambios en las neuroimágenes, la necesidad de evaluadores expertos, así como también la falta de incorporación de otros aspectos muy importantes como la alteración cognitiva.

Algunos pacientes que cumplen los criterios establecidos de NEDA presentan manifestaciones clínicas, como la fatiga o la sensibilidad a la temperatura, y evidencias en neuroimágenes, como el compromiso de la sustancia blanca de apariencia normal, de las meninges o el depósito de hierro en la sustancia gris, que indican que la enfermedad no se encuentra inactiva. Esto sugiere la una compleja interacción de mecanismos muy heterogéneos en el desarrollo y progresión de la EM (*Smith, Cohen, & Hua, 2017*).

Actualmente, se está planteando la incorporación de nuevas herramientas que permitan un consenso más homogéneo y preciso a la hora de definir la presencia de actividad en EM.

1.7. Biomarcadores

Un biomarcador es un parámetro biológico que puede medirse de forma objetiva y tiene la capacidad de discriminar y definir una actividad biológica como normal o anormal, indicar la progresión de una enfermedad o definir los efectos de una intervención terapéutica determinada.

Los biomarcadores en EM pueden clasificarse como predictivos, que definen riesgo de padecer la enfermedad, diagnósticos, pronósticos, específicos de proceso, que permiten determinar el mecanismo molecular involucrado en el desarrollo de la enfermedad; y finalmente los biomarcadores de respuesta al tratamiento.

Dentro de los biomarcadores predictivos cabe destacar la importancia que han adquirido los factores genéticos asociados a un riesgo aumentado de padecer la enfermedad.

1.7.1. Factores genéticos

Una de las características de la EM es su heterogeneidad genética. En los últimos años diferentes estudios han sido realizados para buscar genes asociados con la enfermedad.

Desde que se realizaron los primeros estudios en familias con varios miembros con EM se observó que los familiares de primer, segundo y tercer grado con EM eran más propensos a padecer la enfermedad con respecto a la población general. Según los datos de estudios previos en EM, alrededor del 15-20 % de enfermos tiene un familiar afectado, sin que se reconozca un claro patrón de herencia (*D. A. Compston, Kellar Wood, Robertson, Sawcer, & Wood, 1995; Robertson et al., 1997; Willer et al., 2003*).

En un trabajo reciente de nuestro grupo donde estudiamos 40 familias con más de un miembro con EM, observamos que estas se clasificaron en dos grupos: familias con casos de EM en al menos dos generaciones diferentes y familias en las que los casos de EM pertenecían a una sola generación. Ambos grupos presentaron diferentes patrones clínicos y distinta frecuencia de asociación con otras enfermedades autoinmunes, poniendo en evidencia la importancia del estudio de los casos fami-

liares de EM para comprender con mayor profundidad la información genética y su impacto en la enfermedad (*Pytel et al., 2018*).

La región del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) ha sido aceptada hasta ahora como el principal factor genético que muestra un alto impacto en la susceptibilidad a la enfermedad. Esta región se encuentra localizada en el brazo corto del cromosoma 6 (región 6p21.3) y es una región densa en genes con numerosos loci involucrados en la respuesta inmune. El sistema HLA (*Human Leukocyte Antigen*) predomina en esta región cromosómica y es por ello por lo que este complejo génico también se denomina región genética HLA (*Goodin, Khankharian, Gourraud, & Vince, 2018; Gourraud et al., 2011; Lincoln et al., 2005*).

El CMH es una familia de genes cuya función es la codificación de moléculas (glicoproteínas) denominadas antígenos leucocitarios humanos o antígenos de histocompatibilidad, que participan en la presentación de antígenos a los linfocitos T y permiten la activación de procesos críticos en la generación de la respuesta inmunitaria.

El CMH comprende más de 400 genes, de los cuales se expresan el 60 % y aproximadamente el 22 % tiene funciones inmuno-reguladoras. Esta región se caracteriza por una alta densidad génica y una baja tasa de recombinación, lo que implica un elevado desequilibrio de ligamiento entre segmentos del CMH, y un elevado polimorfismo (o variabilidad genética) (*Oksenberg, Baranzini, Sawcer, & Hauser, 2008; Traherne, 2008*).

Los genes HLA son bien conocidos por su fuerte relación con las patologías inmunes, como la diabetes mellitus tipo I, hemocromatosis, artritis reumatoide y EM.

Los distintos estudios han demostrado que la señal de susceptibilidad principal a la EM se localiza en el gen *HLA-DRB1*, donde el alelo *HLA-DRB1*15:01* presenta la asociación más fuerte. Este alelo se ha asociado con mayor presencia en mujeres, y los pacientes que lo presentan muestran -en general- una edad de inicio de la enfermedad más temprana. A su vez se ha asociado con la presencia de bandas oligoclonales y niveles de IgG en el LCR de pacientes, y con mayor frecuencia en poblaciones de Europa (*Goodin et al., 2018; Hollenbach & Oksenberg, 2015*).

A pesar de la predominancia del papel del CMH en la susceptibilidad de padecer EM, no permite explicar todo el componente genético relacionado con la enfermedad. Esto pone de manifiesto la complejidad genética de la EM.

En el año 2007, se identificó el primer locus no relacionado con HLA en pacientes con EM, y se observó que los genes *IL7Ra* y *IL2Ra* estaban asociados significativamente con la enfermedad (*Gregory et al., 2007; Lundmark et al., 2007*). Posteriormente, se han realizado un número amplio de estudios que han mostrado una lista mayor de posibles loci relacionados con la EM. La mayoría de los genes detectados codifican proteínas relacionadas con el sistema inmune y hasta un tercio de ellos han sido relacionados con otras enfermedades autoinmunes (*Baranzini,*

2009; Tan, Jiang, Tan, & Yu, 2014).

El gran desarrollo de la investigación genómica sugiere su potencial uso en el campo de la terapéutica y de los mecanismos de desmielinización y remielinización de los pacientes con EM. El beneficio y la respuesta a los fármacos, o el desarrollo de eventos adversos, puede depender del estado de ciertas vías de señalización. Las variantes genéticas pueden influir en estas vías, por lo que su estudio puede ser relevante para aquellos marcadores genéticos asociados a la respuesta a los fármacos utilizados en la práctica clínica.

1.7.2. Biomarcadores en líquido cefalorraquídeo y sangre

La EM es una enfermedad heterogénea en la cual la respuesta a los tratamientos varía en cada paciente. Por ello son importantes los biomarcadores que ayuden a identificar una mejor respuesta ante los distintos tratamientos disponibles.

El biomarcador de LCR más utilizado y estudiado durante muchos años ha sido las bandas oligoclonales (BOC), descubiertas por primera vez en 1959. Hasta el 90 % de los pacientes con EM presenta BOC en el LCR, lo que llevó a la inclusión de las BOC como primer biomarcador en los criterios de diagnóstico de la EM en 1983. Aunque actualmente su presencia ya no es necesaria para el diagnóstico de EM, su detección sigue siendo una herramienta útil en el diagnóstico diferencial y

pronóstico de los pacientes con esta enfermedad. La sensibilidad y especificidad para su detección es de aproximadamente el 95 %. Se asocian con una progresión más rápida de la discapacidad y con un mayor número de lesiones que captan contraste en RM (Villar *et al.*, 2014).

Durante muchos años su uso ha estado limitado al diagnóstico de la EM. Sin embargo, recientemente se ha visto aumentado el número de biomarcadores estudiados, entre ellos la quitinasa 3 tipo 1 (*chitinase 3 like 1*), que ha sido validada como un factor de riesgo de conversión a EM en pacientes clasificados como CIS (Lycke & Zetterberg, 2017; Sellebjerg, Royen, Soelberg Sorensen, Oturai, & Jensen, 2018).

Otro de los biomarcadores cada vez más estudiados son las cadenas ligeras de los neurofilamentos (NFL), el componente más importante del citoesqueleto axonal en las neuronas. En diferentes estudios se ha observado que las concentraciones de NFL aumentan en LCR tras recaídas de la enfermedad. Asimismo, los niveles de NFL se han asociado a la presencia de lesiones en RM con aumento de gadolinio (Burman *et al.*, 2014; Domingues *et al.*, 2017; Sellebjerg *et al.*, 2018).

En la EM y otras patologías del SNC, es más probable que los procesos patológicos se reflejen en el LCR que en la sangre, debido a la proximidad con el tejido afectado. Sin embargo, los biomarcadores estudiados en sangre podrían facilitar la monitorización de la enfermedad mediante un procedimiento menos invasivo. Gracias al desarrollo en los últimos años de inmunoensayos más sensibles se ha observado que los NFL podrían ser el biomarcador con gran potencial a incluir en

la práctica clínica. Los NFL reflejan el daño axonal y los niveles de este biomarcador en sangre parecen correlacionar con los niveles observados en LCR (*Lycke & Zetterberg, 2017*).

1.8. Desmielinización y remielinización

1.8.1. Generalidades

La EM, como hemos mencionado anteriormente, es una enfermedad crónica inflamatoria del SNC que conduce a la desmielinización y neurodegeneración.

Los fenómenos biológicos más importantes involucrados en la EM son las alteraciones de la estructura de la mielina y del metabolismo de sus componentes. Esto provoca la formación de grandes placas confluentes de desmielinización en la sustancia blanca y la sustancia gris (*Lassmann, Bruck, & Lucchinetti, 2007*).

La EM es considerada una enfermedad autoinmune mediada por células T autorreactivas que actúan sobre antígenos del SNC. La inflamación está dominada por las células T y los macrófagos activados o microglía. Está ampliamente aceptado que las células T autorreactivas activadas (predominantemente subconjuntos Th17) migran a través de la barrera hematoencefálica e invaden el SNC donde son reactivadas por células presentadoras de antígenos locales. Las células T reactivadas secretan citoquinas pro-inflamatorias, estimulan la microglía y los

astrocitos, y reclutan otras células inmunitarias que ayudan a propagar una cascada de eventos inflamatorios que culminan en la destrucción de la mielina, pérdida de oligodendrocitos y daño axonal (Buzzard, Chan, Kilpatrick, & Murray, 2017; Torre-Fuentes et al., 2017) (figura 1.8).

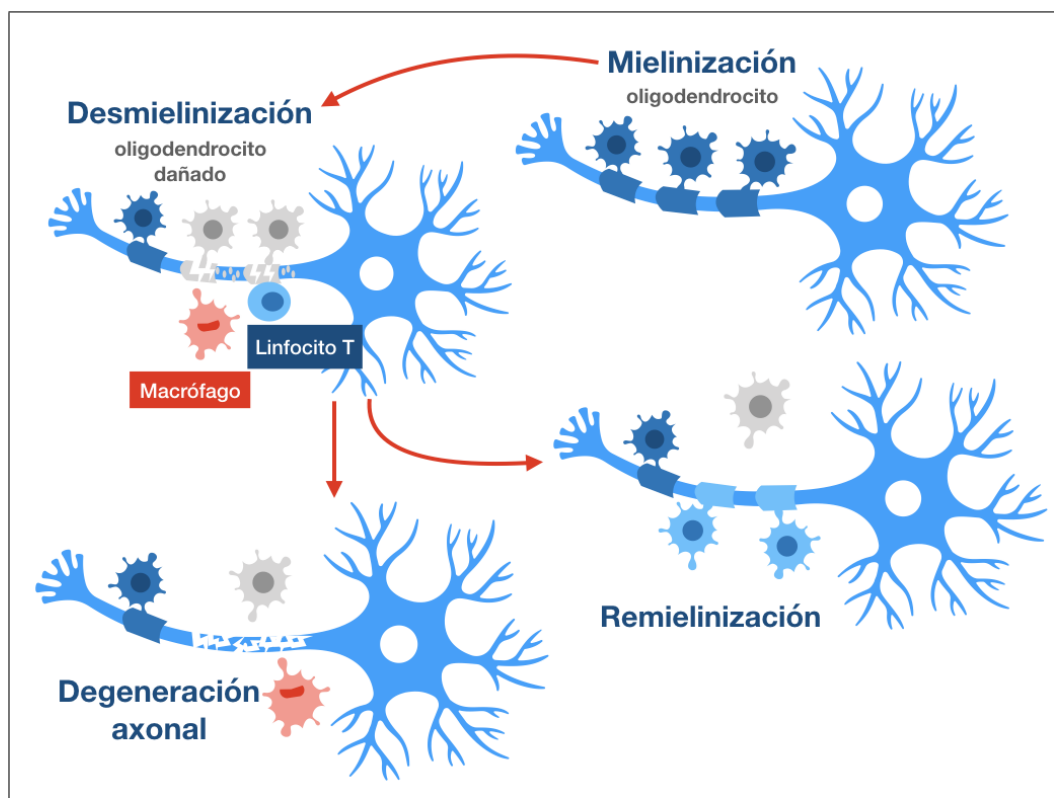


Figura 1.8: Desmielinización-remielinización en EM. Después de la desmielinización, consecuencia de la activación patológica de linfocitos T y macrófagos, la vaina de mielina se destruye, pero el axón permanece intacto, lo que permite que la respuesta regenerativa natural de remielinización genere nuevas vainas a partir de oligodendrocitos recién formados. En ausencia de remielinización, se produce una degeneración axonal que puede desencadenar una respuesta inflamatoria secundaria.

Los oligodendrocitos son las células mielinizantes del SNC durante el desarrollo y la edad adulta. En la EM se produce una pérdida de

estas células durante la desmielinización, que es seguida por una remielinización, principalmente llevada a cabo por las células precursoras de oligodendrocitos (OPCs), una población de células progenitoras distribuidas en el SNC de adultos (*Dulamea, 2017*). Estas células migrarán en forma específica a las zonas dañadas del SNC guiadas por una serie de señales como quimioquinas, factores de crecimiento y proteínas de matriz extracelular. Posteriormente mediante un proceso de diferenciación estos precursores se transforman en oligodendrocitos maduros que sintetizan mielina y remielinizan los axones dañados mediante la síntesis de capas concéntricas de mielina (*Hartley et al., 2014*).

Este ciclo de desmielinización, señales de migración, maduración y posterior remielinización de zonas dañadas es muy efectivo en la forma recurrente remitente de la enfermedad. En la forma progresiva de EM, predomina la neurodegeneración sobre la inflamación. Diferentes trabajos han demostrado que el proceso desmielinizante activo parecería ir más lento a medida que la enfermedad se transforma en una forma progresiva y la respuesta inmune puede cambiar de adaptativa, mediada por células T y B específicas de antígenos, a innata (*Dulamea, 2017; Weiner, 2008*).

Como mencionamos previamente la capacidad de remielinización se pierde durante las fases avanzadas de la enfermedad, constituyendo un aspecto relevante en el tratamiento de los pacientes con EM, debido a que la mayoría de los tratamientos disponibles en la actualidad están dirigidos a controlar los mecanismos inmunitarios en fases precoces

de desmielinización. El conocimiento en profundidad de los procesos de desmielinización, remielinización, y neurodegeneración pueden contribuir a establecer nuevas dianas terapéuticas para los pacientes con EM. Por ello, será necesario encontrar nuevos biomarcadores con mayor sensibilidad y especificidad para poder avanzar en el estudio las distintas etapas y procesos patológicos involucrados en la EM.

1.8.2. Neuroimágenes y remielinización

En los últimos años la técnica de neuroimágenes más utilizada para el estudio de la estructura de la sustancia blanca cerebral fueron las imágenes ponderadas en difusión. No obstante, estas técnicas presentan algunas limitaciones ya que no permiten medir de una manera directa la mielinización de la sustancia blanca y puede verse afectada por la composición estructural de la sustancia blanca cerebral, así como por las distintas características celulares y de la microestructura del tejido (*Beaulieu, Johansen-Berg, & Behrens, 2014; Heath, Hurley, Johansen-Berg, & Sampaio-Baptista, 2018; Yu et al., 2018*).

Sin embargo, a pesar de seguir constituyendo una técnica sensible para el estudio de la mielina cerebral, distintos métodos de RM otorgaron en los últimos años herramientas para profundizar en el estudio de la mielinización del SNC (tabla 1.4).

Aunque sabemos que las técnicas de RM nunca alcanzarán la misma resolución y especificidad de las técnicas celulares, sí ofrecen enormes

oportunidades para la comprensión del desarrollo cerebral, desarrollo de enfermedades, pronóstico y posibles tratamientos.

Tabla 1.4: Estudio de la mielina por RM. Técnicas, parámetros y términos relevantes en el estudio de la mielina por RM (basada en *Heath et al., 2018*).

Nombre y abreviatura	Descripción
<i>Bound pool fraction</i> (f)	Técnica de transferencia de magnetización cuantitativa que estima la proporción de intercambio de protones unidos a macromoléculas, como los que se encuentran en la mielina.
<i>Multi-exponential T2</i> (MET2)	Técnica para ajustar la señal de RM a múltiples compartimentos no intercambiables que provienen del agua atrapada en las capas de mielina.
<i>Multi-parameter mapping</i> (MPM)	Técnica para mapear simultáneamente uno o más parámetros de relajación.
<i>Magnetization transfer</i> (MT)	Esta técnica proporciona un método cuantitativo para evaluar las propiedades del intercambio de energía entre dos poblaciones, agua libre y ligada a macromoléculas.

Sigue en la página siguiente

Nombre y abreviatura	Descripción
<i>Magnetization transfer ratio</i> (MTR)	Evidencia la relación de una imagen con ponderación MT dividido por una imagen sin ponderación MT, por lo cual, una disminución en el RTM indicaría una pérdida de estructura macromolecular (mielina).
<i>Myelin water fraction</i> (MWF)	Se basa en la medición del tiempo de relajación transversal derivado del agua atrapada entre las capas de la mielina.
<i>Myelin water imaging</i> (MWI)	Conjunto de técnicas de RM para cuantificar los parámetros de fracción y relajación derivados del agua atrapada en las bicapas lipídicas del agua.
<i>Pool size ratio</i> (PSR)	Ratio que se encuentra basado en el modelado cuantitativo del efecto de transferencia de magnetización entre distintos compartimientos de agua.
<i>Quantitative magnetization transfer</i> (QMT)	Técnica de imágenes para cuantificar los parámetros MT.
<i>Spin-lattice relaxation</i> (T1)	Velocidad a la que los protones excitados renuncian a su energía y regresan al estado basal.

Sigue en la página siguiente

Nombre y abreviatura	Descripción
<i>Spin-spin relaxation</i> (T2)	La velocidad a la que la señal de RM decae exponencialmente hacia su valor de equilibrio.
<i>Reversible spin-spin relaxation</i> (T2*)	La velocidad a la que la señal de RM decae debido a las variaciones locales en el campo magnético.
<i>Susceptibility weighted imaging</i> (SWI)	Imagen de gradiente eco con una combinación de información sobre la magnitud y fase de la señal que permite resaltar las diferencias entre la susceptibilidad de los tejidos.
<i>Quantitative Susceptibility Mapping</i> (QSM)	Técnica que permite cuantificar el cambio de susceptibilidad de los tejidos utilizando SWI.

1.9. Tomografía por emisión de positrones

1.9.1. Características generales y su utilidad en diferentes enfermedades neurológicas

Las técnicas de Medicina Nuclear, como la tomografía por emisión de positrones (PET) o la tomografía por emisión de fotón único (SPECT),

han realizado importantes aportaciones en el estudio de las diferentes patologías neurológicas. Estas técnicas funcionales contribuyen al mejor conocimiento de la fisiopatología y permiten el diagnóstico en etapas precoces de la enfermedad.

La PET es una técnica de imagen cuyo fundamento se basa en el empleo de radiofármacos marcados con isótopos emisores de positrones, que hacen posible el estudio y la cuantificación *in vivo* de numerosos procesos cerebrales.

La PET proporciona información de carácter metabólico-bioquímico-molecular sobre el funcionamiento del cerebro humano *in vivo* y abre una nueva vía para analizar las diferentes bases bioquímicas, fisiológicas y/o fisiopatológicas de enfermedades neurológicas o psiquiátricas (Carreras-Delgado *et al.*, 1997; J. A. Matías-Guiu, Cabrera-Martín, *et al.*, 2017; J. A. Matías-Guiu, Cabrera-Martín, Oreja-Guevara, Carreras, & Matías-Guiu, 2016; J. A. Matías-Guiu, Guerrero-Marquez, *et al.*, 2017; J. A. Matías-Guiu, Pytel, *et al.*, 2016).

Los tomógrafos PET detectan la radiación electromagnética procedente de la aniquilación de positrones con los electrones de la materia, que ocurre en el interior del paciente (Martí-Climent, Prieto, Lafuente, & Arbizu, 2010) (figura 1.9). Los isótopos emisores de positrones con básicamente cuatro: ^{11}C , ^{13}N , ^{15}O , ^{18}F , pero el escaso periodo de semidesintegración de los tres primeros hace que el ^{18}F sea el más empleado en la práctica clínica. Se debe destacar que la sensibilidad de detección de estos radiotrazadores es alta, al igual que la capacidad para su medición,

ya que las cámaras PET son capaces de detectar los fotones con gran eficiencia y resolución espacial, y a diferencia del SPECT puede detectar fotones que se mueven en distintos ángulos (*Dale L. Bailey, 2005; Dale L Bailey, Maisey, Townsend, & Valk, 2005*). Esta característica, sumada a que la dosis de radiación necesaria para llevar a cabo estos estudios es baja, hacen de la PET una herramienta muy útil y segura para ser utilizada tanto en la práctica clínica como en investigación.

Las propiedades que caracterizan el radiofármaco ideal para el estudio de enfermedades neurológicas son bajo peso molecular, neutralidad y lipofilia, que permiten atravesar la barrera hematoencefálica, así como mayor afinidad por las dianas del sistema nervioso central. En neurología, el radiofármaco PET más empleado hasta la actualidad ha sido la 2-deoxi-2-[^{18}F]fluoro-D-glucosa (FDG), que permite mejorar la sensibilidad y especificidad diagnóstica de las distintas demencias y hacer un diagnóstico más precoz de las mismas (*Prestia et al., 2013; Silverman, 2004*), así como avanzar en el estudio de otras enfermedades neurológicas como epilepsia, ictus, tumores, enfermedades desmielinizantes y de motoneurona (*Andrée, Vicioso, Jáuregui, Aliño, & Delgado, 2002; Carreras-Delgado, Pérez-Castejón, Jiménez-Vicioso, et al., 1997; Carreras-Delgado, Pérez-Castejón, Montz, Maldonado, & Gorospe, 1997; Masdeu, Arbizu, Toledo, & Valero, 2006; J. A. Matías-Guiu et al., 2015; J. A. Matías-Guiu, Cabrera-Martín, et al., 2016; J. A. Matías-Guiu, Oreja-Guevara, et al., 2016*).

Otros radiofármacos han realizado también una gran aportación al

estudio de enfermedades neurológicas y de los procesos biológicos involucrados, como la ^{18}F -DOPA y los trazadores amiloides. El primero de ellos alcanza su mayor aplicación en el estudio de los parkinsonismos clínicamente inciertos permitiendo detectar la pérdida de terminaciones dopaminérgicas en el cuerpo estriado. Por su parte, los trazadores amiloides son herramientas muy potentes en el estudio de demencias como la enfermedad de Alzheimer, pero también se han sugerido para el estudio de otras enfermedades como la esclerosis lateral amiotrófica y la EM (*J. A. Matías-Guiu, Cabrera-Martín, et al., 2017; J. A. Matías-Guiu et al., 2015; J. A. Matías-Guiu, Cabrera-Martín, et al., 2016; J. A. Matías-Guiu, Oreja-Guevara, et al., 2016; Stankoff et al., 2011*).

En los últimos años se ha estudiado el potencial de nuevos radiofármacos para su aplicación en el ámbito de las enfermedades neurológicas, entre ellos los radiotrazadores cuya diana es la proteína Tau. Esta proteína se encuentra acumulada en diversas enfermedades neurodegenerativas, como las taupatías (degeneración frontotemporal, parálisis supranuclear progresiva, síndrome corticobasal) y la enfermedad de Alzheimer, entre otras. Sin embargo, muchos de estos trazadores aún se encuentran en fase de investigación (*Benadiba, Luurtsema, Wichert-Ana, Buchpigel, & Busatto Filho, 2012; Kuwabara et al., 2018; Villémagne et al., 2014; Vogel et al., 2019*).

Otras dianas para nuevos trazadores son los receptores para benzodiazepinas (trazador ^{11}C -PK11195) (*Passamonti et al., 2018; Schuite-maker et al., 2013*); la sinucleína, los cuerpos de Lewy como (^{11}C -BF227)

y la acetilcolinesterasa ($[(^{18}\text{F})\text{F}]\text{F}EtP4A$) (*Kikuchi et al., 2010; Zhang et al., 2018*).

Por último, es interesante destacar el papel de la PET con radioligandos de unión a la proteína translocadora 18-kDa (TSPO), aumentada tras la activación de la microglía, que permite la evaluación de la activación microglial *in vivo*, debido a la asociación de la sobreactivación de la microglía con varias enfermedades neurológicas, entre ellas la EM. En los últimos años, esta técnica está adquiriendo un rol relevante en el estudio de la activación microglial en relación con el desarrollo de la neuroinflamación, la neurodegeneración y la progresión de enfermedades neurológicas (*Airas, Rissanen, & Rinne, 2015; Hagens et al., 2018*).

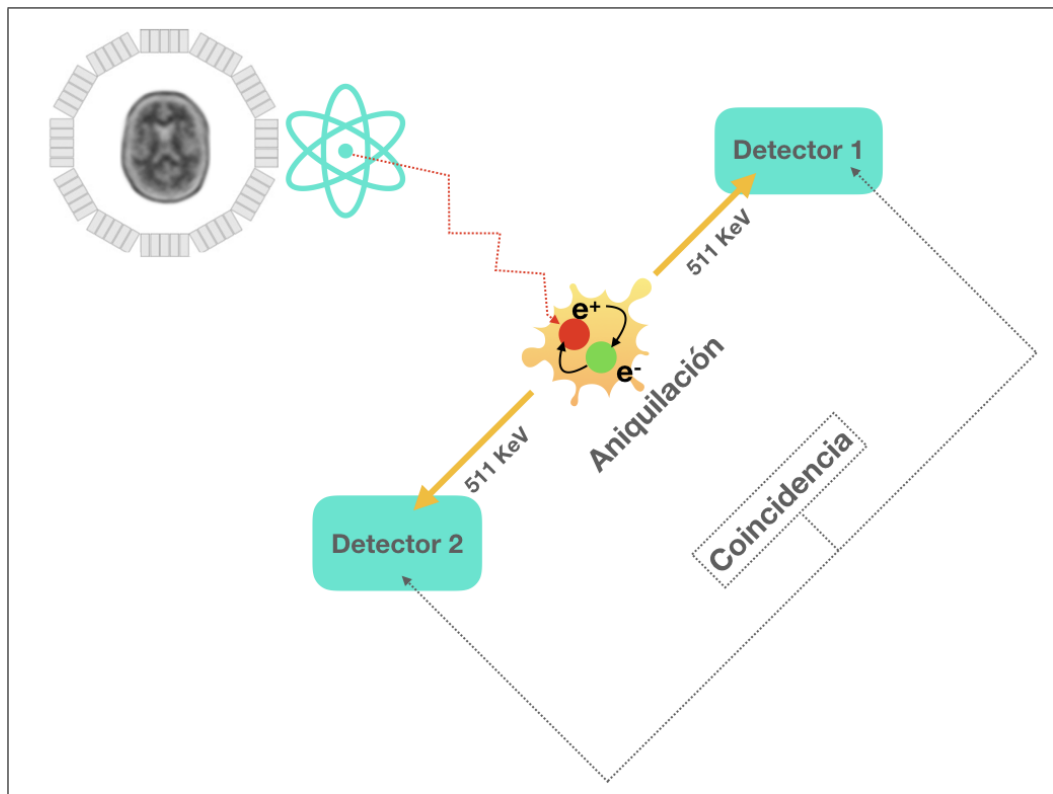


Figura 1.9: Proceso de aniquilación y generación de fotones gamma. El radioisótopo libera un positrón que al encontrarse con un electrón se aniquilan convirtiendo su masa en energía en forma de rayos gamma. Como consecuencia, se emiten dos fotones de 511 KeV que se dirigen en sentidos opuestos (180°). La detección simultánea de ambos fotones se conoce como *coincidencia*. Las cámaras PET son capaces de detectar estos fotones emitidos con gran eficiencia y buena resolución espacial.

1.9.2. PET con radiotrazadores amiloide

Los radiotrazadores de amiloide PET representan una herramienta muy útil para medir de forma cuantitativa la carga de amiloide insoluble *in vivo*. Recientemente esto ha adquirido particular relevancia debido a la posibilidad de intervenir en la producción y aclaramiento de la proteína amiloide en el estudio de diversas enfermedades neurodegenerativas, planteándose como posibles dianas terapéuticas en distintos ensayos clínicos (*Bergeron et al., 2018; J. A. Matías-Guiu, Cabrera-Martín, et al., 2016; J. A. Matías-Guiu, Pytel, et al., 2016; Wall et al., 2018*).

La diana de los trazadores amiloides es el amiloide fibrilar con conformación beta-laminar (*Glennner, 1980a, 1980b; Ikonomic et al., 2008; Wong et al., 2010*). Estos trazadores alcanzan una mayor sensibilidad y especificidad cuando la carga de amiloide es moderada o alta (*Clark et al., 2012*); sin embargo, no son un marcador específico y existe una captación fisiológica no específica en la sustancia blanca normal, lo que se puede aprovechar para el estudio de la misma (*Harada, Okamura, Furumoto, & Yanai, 2018; Kalheim, Fladby, Coello, Bjornerud, & Selnes, 2018; J. A. Matías-Guiu et al., 2015*).

Los principales trazadores amiloides desarrollados hasta el momento derivan de diferentes productos químicos presentados a continuación en la tabla 1.5 (*tabla 1.5*).

Tabla 1.5: Trazadores amiloides. Productos químicos de origen.

Producto químico	Trazador
Tioflavina T	^{11}C -PIB, ^{18}F -flutemetamol, ^{11}C -AZD2184
Estilbenos	^{18}F AV-45/florbetapir, ^{18}F AV-1/florbetabén y ^{11}C -SB-13
Benzoxazoles	^{11}C -BF-227, ^{18}F -BF-227
Aminonaftalenos	^8F -FDDNP
Benzofuranos	^{18}F -AZD4694

El primer radiotrazador amiloide específico fue desarrollado en la Universidad de Pittsburgh (Mathis & Klunk), mediante la modificación de la Tioflavina T. Fue el denominado N-Metil- ^{11}C]2-(4'-metilaminofenil)-6-hidroxibenzotiazol (^{11}C]PIB), o compuesto Pittsburgh B (^{11}C -PIB). Posteriormente se desarrollaron y aprobaron para su uso clínico tres trazadores marcados con ^{18}F (^{18}F -Florbetapir, ^{18}F -Florbetabén y ^{18}F -Flutemetamol). Estos últimos, al estar marcados con ^{18}F , no requieren de un ciclotrón en el propio hospital para su producción, debido a que poseen una vida media más larga. Los trazadores de amiloide presentan una alta sensibilidad y especificidad para la detección de placas de amiloide, e incluso pueden detectar amiloide varios años antes del comienzo de la clínica ((*Fleisher et al.*, 2012; *Mosconi et al.*, 2013; *Yang, Rieves, & Ganley*, 2012) (figura 1.10).

En los últimos años, se han tratado de desarrollar nuevos radiotrazadores de amiloide con el objetivo de aumentar la sensibilidad y especificidad. Entre otros, destacan dos derivados del benzofurano etiquetados con ^{64}Cu (^{64}Cu -6 y ^{64}Cu -8), radioligandos basados en el ben-

ciloxibenceno, etiquetados con ^{18}F (^{18}F -7a y ^{18}F -7a), dos benciloxibencenos marcados con derivados ^{18}F (^{18}F -5a, ^{18}F -9a, ^{18}F -7b) y el Imidazo [2,1-b]benzotiazol (IBT), marcados con ^{18}F . Todos estos trazadores en estudio requieren de futuros trabajos en seres humanos que permitirán evaluar una posible aplicación en el ámbito clínico y de investigación (Sundaram et al., 2015; Watanabe et al., 2014; Watanabe, Ono, & Saji, 2015; Yousefi et al., 2011).

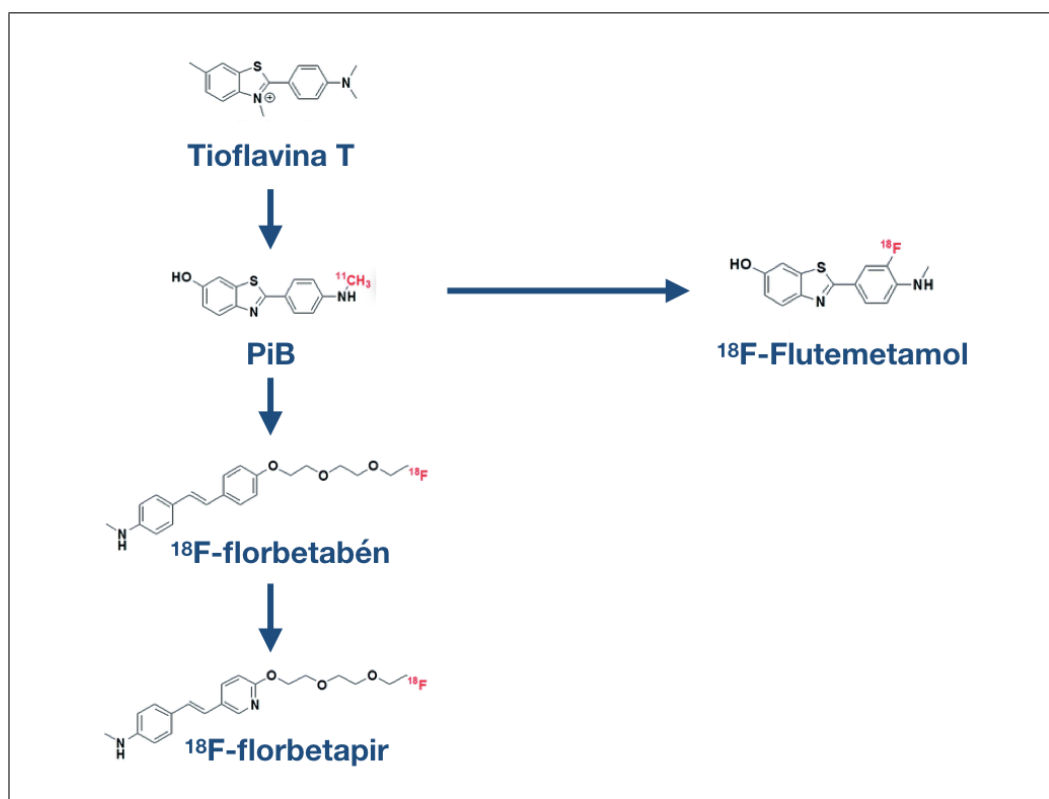


Figura 1.10: Radiotrazadores amiloides fluorados.

1.9.3. Tomografía por emisión de positrones en EM

Como mencionamos previamente, la PET es una técnica de imagen que permite el estudio de diferentes procesos biológicos mediante el uso de trazadores específicos. Si bien los estudios realizados son aún preliminares, en la EM se ha sugerido el empleo de diferentes trazadores, como ^{18}F -fluorodesoxiglucosa (FDG); ^{11}C -2-(4'- methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole (PIB) y derivados que detectan la proteína β amiloide fibrilar; el ^{11}C -PK11195 y otros ligandos relacionados que se unen específicamente a TSPO, como índice de neuroinflamación. Asimismo, también se han postulado para el estudio de actividad astrocitaria ligandos que se unen a MAO-B y al receptor 12-imidazoline. Sin embargo, son necesarios más estudios para evaluar su utilidad y aplicabilidad en distintas patologías incluida la EM. Diversos trabajos han observado que el uso de PET en EM puede ampliar la comprensión de los aspectos de la heterogeneidad patológica de las lesiones de EM no reportados por RM (*Banati et al., 2000; Ciccarelli et al., 2014; Colasanti et al., 2014; J. A. Matías-Guiu et al., 2015; Matthews & Datta, 2015; Niccolini, Su, & Politis, 2015; Park et al., 2015; Politis et al., 2012; Stankoff et al., 2011; Vivash & O'Brien, 2016*).

De todos estos marcadores, los trazadores de amiloide presentan algunas características que hacen su estudio relevante:

1. Existen derivados fluorados, lo que aumenta la semivida del trazador y por lo tanto su potencial aplicabilidad clínica

2. Se encuentran aprobados para uso clínico, aunque en otras indicaciones, con adecuados márgenes de seguridad
3. Su análisis no requiere el estudio del genotipo del paciente, como ocurre con algunos trazadores de microglía
4. Se ha sugerido una potencial utilidad clínica para valorar el estado de desmielinización/remielinización del paciente (*Herholz & Ebmeier, 2011; Sabri, Seibyl, Rowe, & Barthel, 2015; Veronese et al., 2015*)

Sin embargo, la experiencia con los trazadores de amiloide en la EM es todavía limitada (*Catafau & Bullich, 2015; Veronese et al., 2015*). El primer estudio realizado fue llevado a cabo por Stankoff y colaboradores en un estudio en macacos y en dos pacientes con EM mediante PET ^{11}C -PIB, observando una menor captación del trazador en las lesiones desmielinizantes en la secuencia potenciada en T1 de RM (*Stankoff et al., 2011*),

En la misma línea, nuestro grupo ha publicado en 2015 un estudio en 12 pacientes con EM, mediante el trazador de amiloide ^{18}F -florbetabén. En este estudio piloto se observó una menor captación del trazador en las lesiones de sustancia blanca observadas en la secuencia FLAIR en comparación con la captación en la sustancia blanca de apariencia normal (NAWM, por la sigla en inglés de "*Normal-Appearing White Matter*") de los mismos pacientes. Se observó asimismo que el porcentaje de variación entre estas dos zonas fue mayor en las formas progresivas de la enfermedad, y se correlacionó negativamente con la edad y la

puntuación en la EDSS, escala que evalúa grado de discapacidad (*J. A. Matías-Guiu et al., 2015*).

Recientemente, Pietriboni y colaboradores han publicado un estudio con ^{18}F -Florbetapir en 12 casos con EM que evidencia una disminución de la captación del trazador en sustancia blanca dañada (DWM, por la sigla en inglés de "*Damaged White Matter*") respecto a NAWM, menor captación en NAWM en los pacientes clasificados como activos y una correlación entre los niveles de $\text{A}\beta$ en LCR y la captación en NAWM (*Pietroboni et al., 2018*).

En conjunto, los resultados de estudios previos con PET amiloide sugieren la potencial utilidad de estos trazadores para el estudio de la sustancia blanca en enfermedades desmielinizantes como la EM (*SJ. A. Matías-Guiu, Cabrera-Martín, et al., 2017; J. A. Matías-Guiu, Cabrera-Martín, et al., 2016; J. A. Matías-Guiu, Oreja-Guevara, et al., 2016; Pietroboni et al., 2018; Stankoff et al., 2011; Zeydan et al., 2018*) (*Figura 1.11*).

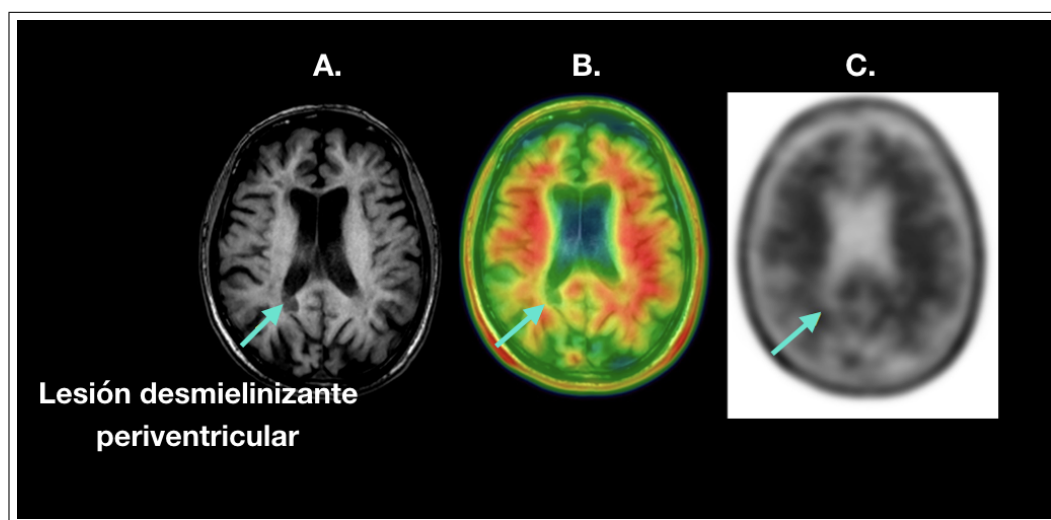


Figura 1.11: PET amiloide con ^{18}F -Florbetabén en paciente con EM. Se observa una lesión crónica desmielinizante periventricular, característica en esta enfermedad, con una menor captación del radiotrazador amiloide. **A.** RM-secuencia potenciada en T1; **B.** PET con ^{18}F -florbetabén corregistrado con RM; **C.** PET con ^{18}F -florbetabén en escala de grises.

En los últimos años se ha abierto un amplio debate acerca de la posibilidad de que existan alteraciones patológicas en regiones cerebrales que no muestran lesiones en los estudios de RM convencional, y esto se ve apoyado por los resultados obtenidos en estudios con PET amiloide en pacientes con EM como mencionamos en los párrafos previos. Es interesante la correlación patológica porque a pesar de que la mielina parece estar conservada y tiene un aspecto normal en estudios de RM, en las áreas NAWM se hallan alteraciones histológicas de lesión crónica caracterizada por la presencia de esferoides axonales e hinchazones, inflamación leve, la activación microglial, gliosis y aumento de la expresión de enzimas proteolíticas. Este tipo de lesión se ha relacionado con la transfección axonal en las lesiones de sustancia blanca (*Allen, McQuaid, Mirakhur, & Nevin, 2001; Moll et al., 2011; Zeis, Howell, Reynolds, & Schaeren-Wiemers, 2018*).

Diferentes datos obtenidos con técnicas de análisis cuantitativo de RM, como el tensor de difusión y la RM de alto campo, evidencian la presencia de estas anormalidades sutiles tanto en sustancia gris como blanca de apariencia normal (*Dehmeshki et al., 2003; Filippi, Bar-Or, et al., 2018; Kutzelnigg & Lassmann, 2005; Mistry et al., 2011; Vrenken et al., 2006*). Incluso la microglía activada medida por la PET-¹¹C-PK11195 se encuentra aumentada en el tejido cerebral de apariencia normal (*Giannetti et al., 2015; Rissanen et al., 2014*). Asimismo, en esta línea, se han hallado alteraciones en el ratio de transferencia de magnetización (*Davies et al., 2005; Mistry et al., 2011*).

En conjunto, los hallazgos de la literatura sugieren que la PET con trazadores de amiloide puede ser útil para el estudio de regiones cerebrales de apariencia normal en RM y como un marcador del estado de desmielinización/remielinización en la EM. Esto puede ser de gran interés clínico en un futuro debido al desarrollo de fármacos con potencial remielinizador. Sin embargo, hasta ahora todos los estudios han sido realizados en series pequeñas de pacientes y de forma transversal.

Capítulo 2

Hipótesis y objetivos

Tras la revisión de la literatura comentada en los apartados previos, nos planteamos las siguientes hipótesis:

- La PET amiloide con radiotrazador ^{18}F -florbetabén podría ser útil para demostrar anormalidades en las áreas NAWM en pacientes con EM y como marcador del estado de desmielinización-remielinización de la sustancia blanca cerebral.
- La PET amiloide como marcador del estado de desmielinización-remielinización podría ser un biomarcador temprano de la evolución de la EM.

A partir de estas hipótesis se han planteado los siguientes objetivos:

- Analizar la captación de ^{18}F -florbetabén en la sustancia blanca de apariencia normal en pacientes con EM
- Estudiar la evolución clínica, cognitiva y radiológica de una serie de pacientes con EM, teniendo en cuenta el estado de desmielinización/remielinización evaluado mediante la PET amiloide.

Capítulo 3

Materiales y métodos

3.1. Diseño de la investigación

Con el fin de contrastar las hipótesis planteadas y desarrollar los objetivos reseñados se diseñó un estudio descriptivo, prospectivo y longitudinal, de una serie de casos, con la metodología que se reseña a continuación.

3.2. Población y ámbito del estudio

El estudio se llevó a cabo en los Servicio de Neurología y Medicina Nuclear del Hospital Clínico San Carlos. Se incluyeron 29 pacientes diagnosticados de EM, reclutados de la consulta específica de la Unidad de Desmielinizante del Servicio de Neurología de este hospital. Para la

inclusión de los casos se aplicaron los criterios de McDonald de 2010 (*Polman et al., 2011*).

Todos los pacientes incluidos en el estudio otorgaron su consentimiento para participar en el mismo. Se excluyeron aquellos pacientes que por su condición clínica no podían completar todos los procedimientos incluidos en el protocolo o que rechazaron su inclusión en el estudio (*tabla 3.1*).

Tabla 3.1: Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Diagnóstico de EM según los criterios de McDonald, de 2010	Incapaces de realizar todos los procedimientos incluidos en el protocolo de estudio
Edad entre 18 y 70 años	Brote clínico en los 2 meses previos a la inclusión
Consentimiento de participación en el estudio	Antecedentes personales de enfermedad sistémica que pueda producir potencialmente síntomas similares a la EM
No presentar ninguno de los criterios de exclusión establecidos	Antecedentes de abuso o adicción a sustancias
	Antecedentes de otras enfermedades neurológicas
	Enfermedad sistémica o psiquiátrica descompensada con potencial que pueda interferir en las variables del estudio

3.3. Período de estudio

El período de reclutamiento de los pacientes abarcó desde enero de 2015 a marzo de 2016. El estudio longitudinal con seguimiento clínico y de neuroimagen se completó en junio de 2018.

3.4. Protocolo del estudio. Instrumentos clínicos y neuropsicológicos

Todos los pacientes fueron evaluados mediante un protocolo específico que incluyó:

3.4.1. Al inicio del estudio

a. Datos demográficos:

- Edad
- Sexo
- Lateralidad
- Lengua materna
- Años de escolaridad

b. Situación clínica relacionada con la enfermedad:

- Fecha de inicio de la enfermedad
- *Expanded Disability Status Scale* (EDSS) (*Kurtzke, 1983*)
- Forma clínica de la enfermedad (EMRR, EMSP, EMPP)
- Tiempo de evolución de la EM (considerada como el tiempo en años desde el primer síntoma neurológico relacionado con la enfermedad hasta el momento de inclusión en el estudio, dato obtenido mediante interrogatorio directo)
- Número de brotes a lo largo de la evolución de la enfermedad, considerando como tal a los episodios de déficit neurológico agudo que tiene una duración mayor a 24 horas

c. Evaluación neuropsicológica, mediante una batería que incluyó las siguientes pruebas:

- Exploración neuropsicológica específica, que incluyó la batería de test neuropsicológicos normalizados en el protocolo NEURONORMA (*Peña-Casanova et al., 2009; Peña-Casanova et al., 2012*):
 - Span verbal directo e inverso (versión española) (*Peña-Casanova, 2005*)
 - Span visual (Cubos de Corsi) directo e inverso (*Kaplan, Fein, Morris, & Delis, 1991*)

- Symbol Digit Modalities Test (SDMT) (*A. Smith, 1973*)
- Trail Marking Test (TMT) parte A y B (*Partington & Leiter, 1949; Reitan & Wolfson, 1993*)
- Boston Naming Test (BNT) (*E. Kaplan et al., 1991; Quiñones-Ubeda, Peña-Casanova, Bohm, Gramunt-Fombuena, & Comas, 2004*)
- Judgment Line Orientation (JLO) (*A. Benton, Hannay, & Varney, 1975; A. L. Benton, Sivan, deS Hamsher, & Varney, 1994*)
- Figura Compleja de Rey-Osterrieth (FCRO) (*Osterrieth, 1944; Rey, 1941*)
- Free and Cued Selective Reminding Test (FCSRT) (*Buschke, 1973, 1984*)
- Fluencias verbales (animales, palabras que comienzan con la letra "p" .^{en} 1 minuto) (*Ramier, 1970*)
- Stroop Color Word Interference Test (*Golden & Freshwater, 1978; Stroop, 1935*)
- Torres de Londres (ToL) (*Culbertson & Zillmer, 2001*)

Se ha evaluado fatiga y depresión mediante las escalas: "*Fatigue Severity Scale*" (FSS) (*Krupp, LaRocca, Muir-Nash, & Steinberg, 1989*) y "*The Beck Depression Inventory*" (BDI) (*Beck, 1961*) respectivamente.

Los test seleccionados para este protocolo permitieron evaluar los principales dominios cognitivos, atención, función ejecutiva, memoria, lenguaje, función visuoespacial (VE), y su utilidad en la EM ha sido

valorada previamente ((*J. A. Matías-Guiu et al., 2018; J. A. Matías-Guiu, Cortés-Martínez, et al., 2017*)

El puntaje obtenido de los diferentes test fue convertidos a valores escalares ajustados por género, edad y escolaridad utilizando los datos normativos del proyecto NEURONORMA (*Peña-Casanova et al., 2009; Peña-Casanova et al., 2012*).

Se consideraron alterados aquellos test con un escalar ≤ 5 (equivalente a un percentil ≤ 5) en las puntuaciones ajustadas según la edad y nivel de educación (figura 3.1).

Se clasificó a los pacientes en aquellos con déficit cognitivo, considerando dentro de este grupo a los casos que presentaban dos o más dominios alterados, y cognitivamente sanos aquellos sin ningún dominio alterado, quedando un tercer grupo indeterminado con aquellos que no cumplían ninguno de estos dos criterios. Para considerar alterados los distintos dominios cognitivos se siguieron los criterios establecidos en el estudio previo publicado por nuestro grupo con la misma batería neuropsicológica (*J. A. Matías-Guiu, Cortés-Martínez, et al., 2017*) (tabla 3.2) y las recomendaciones de Golden (*Golden, Espe-Pfeifer, & Wachsler-Felder, 2000*). Si bien para diferentes autores la IPS no constituye un dominio cognitivo en si mismo, se decidió separar de la atención/función ejecutiva dada la importancia que se le ha otorgado dentro de las alteraciones cognitivas en la EM (*Benedict & Zivadinov, 2011*).

d. Resonancia magnética cerebral.

e. PET amiloide con el radiotrazador ^{18}F -florbetabén.

Tabla 3.2: Criterios para establecer dominios cognitivos alterados en los pacientes de la cohorte de estudio (basada en *Matías-Guiu, et al., 2017*). **BNT:** *Boston Naming Test*; **FCRO:** Figura Compleja de Rey-Osterrieth; **FCSRT:** *Free and Cued Selective Reminding Test*; **IPS:** *Information processing speed*; **JLO:** *Judgment of Line Orientation*; **SDMT:** *Symbol Digit Modalities Test*; **TMT:** *Trail Making Test*; **ToL:** Torres de Londres.

Atención y función ejecutiva	<ul style="list-style-type: none"> - TMT: déficit en puntaje obtenido en la parte B, pero parte A normal - ToL: número total de movimientos correctos - Test de Stroop: déficit en los scores de la parte c del test, con parte a y b dentro de rangos de normalidad - Span verbal directo e inverso o cubos de Corsi con diferencia entre el directo e inverso por más de 3 puntos - Déficit en fluencia formal pero con la fluencia semántica normal - Déficit en fluencia (formal y semántica) pero BNT normal
Velocidad de procesamiento	<ul style="list-style-type: none"> - Déficit en los scores del SDMT - Déficit del TMT parte A
Función visuoespacial	<ul style="list-style-type: none"> - Déficit en los scores de JLO - Déficit en FCRO (copia)
Memoria	<ul style="list-style-type: none"> - Déficit en los scores del FCSRT (recuerdo total o diferido) con scores del BNT normales - FCRO: déficit en recuerdo a 30 minutos pero copia normal
Lenguaje	<ul style="list-style-type: none"> - Déficit en BNT - Déficit en fluencia semántica, pero fluencia formal normal

Perfil neuropsicológico general																				
Caso:	Edad:	Escolaridad:																		
	Percentiles y puntuaciones escalares																			
	<1	1	2	3-5	6-10	11-15	16-20	21-25	26-30	31-35	36-40	41-45	46-50	51-55	56-60	61-65	66-70	71-75	76-80	>99
Span verbal dir.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
Span verbal inv.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
Span visual dir.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
Span visual inv.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
TMT-A	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
TMT-B	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
SDMT	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
BNT	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
JLO	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
FCRO copia	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
FCRO tiempo	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
FCSRT RL-1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
FCSRT RLT	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
FCSRT RT	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
FCSRT RDL	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
FCSRT RDT	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
FCRO 3 min	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
FCRO 30 min	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
FCRO Rec.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
Fluencia semántica	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
Fluencia formal (p)	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
Stroop palabra	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
Stroop color	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
Stroop palabra-color	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
TOL correctos	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
TOL Mov. Tot.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
TOL inicio	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
TOL ejecución	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			
TOL resolución	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18			

Figura 3.1: Perfil neuropsicológico incluido en el protocolo. Se observa a modo de ejemplo, los resultados obtenidos del estudio de un paciente con EM, se consideraron deficitarios aquellos con un escalar ≤ 5 (FCRO 3 y 30 min). **BNT:** Boston Naming Test; **FCRO:** Figura Compleja de Rey-Osterrieth; **FCSRT:** Free and Cued Selective Reminding Test; **Rec.:** Reconocimiento; **Mov. Tot.:** Movimientos Totales; **inv.:** inverso; **JLO:** Judgment of Line Orientation; **RDL:** Recuerdo Diferido Libre; **RDT:** Recuerdo Diferido Total; **RL-1:** Recuerdo Libre en 1 minuto; **RLT:** Recuerdo Libre Total; **RT:** Recuerdo Total; **SDMT:** Symbol Digit Modalities Test; **TMT:** Trail Making Test; **ToL:** Torres de Londres.

3.4.2. En el seguimiento

Se realizó reevaluación clínica, neurocognitiva y de neuroimagen según el protocolo especificado a continuación.

- a. Datos demográficos (edad, escolaridad)
- b. Situación clínica relacionada con la enfermedad:

- EDSS
- Forma clínica actual
- Tratamiento modificador de la enfermedad

Un cambio significativo de la EDSS se consideró como una disminución de 1,0 punto o más si la EDSS inicial era $<5,5$; o de 0,5 puntos o más si era $\geq 5,5$ (*Goodkin, 1991*).

Asimismo, se clasificó a los pacientes en dos grupos, según la definición del NEDA-4 (*Stangel et al., 2015*), (pacientes con enfermedad activa o pacientes sin evidencia de actividad), considerándose activos los que cumplieran los siguientes criterios:

- Evidencia de brotes
- Progresión en la EDSS, definido como un aumento en la puntuación de la EDSS de 1,5 puntos a partir de una puntuación base entre 0 y 1 punto, 1 punto a partir de una puntuación de base de 1

o más, o de 0,5 puntos a partir de una puntuación de base de más de 5

- Actividad en RM, definido como lesiones nuevas en T2 o gadolinio positivas
- Aumento de la atrofia cerebral en RM, considerando media de AR-BVL inferior al 0,4 %. AR-BVL: $(PCVC/100+1)^{(365.25/days)-1} \times 100$. PCVC: Índice de cambio de SIENA

c. Evaluación neuropsicológica: todos los casos fueron reevaluados mediante el mismo protocolo cognitivo utilizado al inicio del estudio (ver apartado 3.4.1) después de 12-18 meses de la evaluación basal. El tiempo medio entre evaluación neuropsicológica basal y reevaluación fue 18 ± 3.32 meses. Un paciente se negó a realizar la reevaluación cognitiva.

Se consideró que los casos incluidos en el estudio presentaron empeoramiento cognitivo a lo largo del seguimiento cuando se evidenció aumento del número de dominios afectados en la segunda evaluación (evaluación de seguimiento) respecto a la evaluación basal, o bien cuando sin aumentar el número de dominios alterados, presentaron algún test que pasó de un rendimiento normal (escalar mayor o igual a 6) en la evaluación basal a rendimiento deficitario (escalar menor de 6) en la valoración de seguimiento (*Kujala, Portin, & Ruutinen, 1997*).

Se consideró la presencia de fatiga en aquellos casos con un valor absoluto mayor de 36 en la escala FSS. Respecto a la presencia de depresión se clasificó a los pacientes en distintos grados según se detallan

a continuación:

- Normal (0-10 puntos)
- Ligero trastorno del estado de ánimo o *borderline* (11-20 puntos)
- Depresión (21-máximo 63)

Tanto las evaluaciones cognitivas como la clasificación en presencia o no de déficit cognitivo y desarrollo de empeoramiento cognitivo se realizaron de forma ciega a independiente a los resultados de los estudios de neuroimagen.

d. Resonancia magnética cerebral: todos los pacientes incluidos en el estudio fueron revaluados con RM cerebral (RM de seguimiento) después de 18 meses de la RM basal. El tiempo medio entre la RM cerebral basal y la de seguimiento fue 25.30 ± 6.40 meses. Un paciente no pudo ser evaluado con la segunda RM incluida en el protocolo.

3.5. Resonancia Magnética

3.5.1. Adquisición de imagen

Proyección de imagen de resonancia magnética se realizó con un escáner 1.5T (*Signa HDxt, GE Healthcare, Milwaukee, EE.UU.*). El protocolo incluyó las siguientes secuencias:

a. T1 3D *fast spoiled gradient-echo* (FSPGR) secuencia de recuperación de la inversión (plano axial; tiempo de repetición [TR], 12 ms; echo tiempo [TE], 2,3 ms; tiempo de inversión [TI], 400 ms; espaciamiento, 0,0 mm; número de excitaciones [NEX], 1; matriz, 256 x 192; y campo de visión [FOV], 25 x 20 cm). Espesor del corte de 3 mm (tamaño del vóxel 1 x 1 x 3) en 39 (68,42 %) resonancias; TR 6,7 ms; TS 1,6 ms; espesor del corte 1 mm (tamaño del vóxel 1 x 1 x1) en 18 (31,57 %) resonancias.

b. Recuperación de la inversión a los fluidos atenuada en T2 (FLAIR) secuencia (axial y sagital; TR, 9102 ms; TE, 121 ms; TI, 2250 ms; espaciado 0,4 mm; NEX, 1; matriz, 256 x 192; FOV, 24 cm).

3.5.2. Preprocesamiento y análisis de la imagen de RM

Las imágenes fueron preprocesadas mediante SPM 12 (*The Wellcome Trust Centre for Neuroimaging, Institute of Neurology, University College of London*).

Las imágenes ponderadas en T1 fueron normalizadas al espacio del Instituto Neurológico de Montreal (MNI) usando la plantilla T1 proporcionada por SPM12.

Se utilizó la herramienta *Lesion Segmentation Tool*(LST) versión 2.0.11 y se aplicó el algoritmo *Lesion growth algorithms* (LGA) que requiere de las secuencias T1 y FLAIR para segmentar las lesiones hiper-

intensas en la secuencia FLAIR y determinar el mapa de lesiones. La segmentación fue posteriormente verificada visualmente en todos los pacientes. Se utilizó un valor de Kappa de 0.3 según las recomendaciones de Schmidt y colaboradores (*Schmidt et al., 2012*). A partir del mapa de lesiones generado previamente se efectuó el llenado de las mismas en la secuencia T1.

Posteriormente se llevó a cabo la segmentación de las imágenes en sustancia blanca, sustancia gris y líquido cefalorraquídeo (LCR), se realizó control de la calidad de las imágenes analizadas, se estimó el volumen intracraneal total, y se controló la homogeneidad mediante la herramienta CAT12 (*Computational anatomy toolbox*) de SPM 12. Se realizó el suavizado a 8 mm de las imágenes.

Del mismo modo, el volumen del parénquima cerebral, normalizado al tamaño del cráneo, incluyendo la determinación de volúmenes de sustancia gris, sustancia blanca y LCR se realizaron también mediante la herramienta SIENAX (*Structural Image Evaluating, using Normalization, of atrophy*). El porcentaje de cambio del volumen cerebral de las dos RM, basal y de seguimiento, (PCVC) se obtuvo mediante la herramienta SIENA. Ambas se encuentran dentro de *FMRIB Software Library* (FSL) (*Bartsch, Bendszus, De Stefano, Homola, & Smith, 2004; Jenkinson, Bannister, Brady, & Smith, 2002; Jenkinson & Smith, 2001; S. M. Smith et al., 2004; S. M. Smith et al., 2002; Y. Zhang, Brady, & Smith, 2001*).

La segmentación y el cálculo del volumen talámico se realizó me-

diante la herramienta FIRST de FSL (*Patenaude, Smith, Kennedy, & Jenkinson, 2011*).

Finalmente, se efectuó la segmentación manual de los agujeros negros en la secuencia T1 3D mediante el uso de la herramienta ITK_SNAP versión 3.6.0 (*Yushkevich et al., 2006*) (figura 3.2).

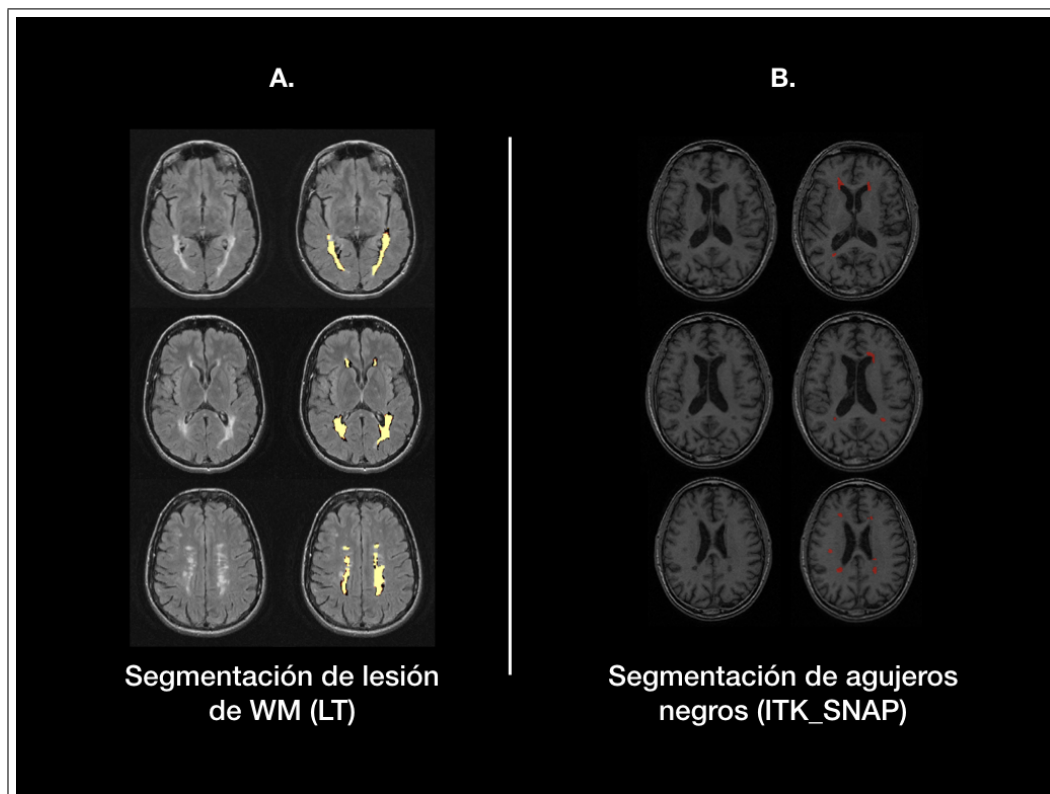


Figura 3.2: **A.** Segmentación de lesión de sustancia blanca con la herramienta *Lesion Segmentation Tool* (LST). **B.** Segmentación manual de agujeros negros con la herramienta ITK SNAP.

Los volúmenes cerebrales se expresaron en mililitros (ml). Todos los pasos del preprocesado y procesado de las imágenes fueron realizados y controlados por el autor de la tesis y un investigador especializado.

3.6. Tomografía por emisión de positrones

3.6.1. Adquisición de imagen

La PET se realizó en un equipo *PET-TC Siemens BiographTM TruePoint* con cristales oxiortosilicato lutecio y 6-slice CT integrado con un escáner PET de última generación. El ^{18}F -florbetabén se administró por vía intravenosa con una dosis media de 300 MBq. Se adquirió la imagen a los 90 minutos post-inyección, con un tiempo de adquisición de imagen de 15 minutos. Los parámetros de adquisición se pueden observar en la tabla 3.3. Se realizó una reconstrucción de imágenes 3D iterativa.

Tabla 3.3: Protocolo de adquisición de las imágenes PET-TAC. Descripción técnica del protocolo de adquisición de las imágenes con Cámara de *Siemens BiographTM TruePoint PET-TAC*. **FWHM:** Full Width at Half Maximum; **KV:** kilovoltaje; **mm:** milímetro; **mAS:** miliamperaje

Estudio	TC baja dosis sin contraste	PET con corrección atenuación TC
^{18}F -florbetabén Neuraceq®	Topograma: 40 mAs, 130 KV. TC: 40 mAs, 130 kV, pitch 0.75, cortes 3mm, filtro Rec H31s media homogénea; Ventana cerebro, Campo de visión de 300mm	PET Brain: Método reconstrucción TrueX Interacciones 2 Subconjuntos 21 Matriz 336x336 Zoom 2 Filtro Gaussiano FWHM 4 mm

3.6.2. Preprocesamiento y análisis de la imagen PET

Las imágenes fueron preprocesadas utilizando el software *Statistical Parametric Mapping* versión 8 (SPM8) (*Centro Wellcome Trust de Neuroimagen, Instituto de Neurología de la University College of London*) (*Ashburner & Friston, 2000*). Se utilizó la imagen de resonancia magnética en 3D-T1 de cada paciente, que se corrigió con la imagen PET mediante la función *Coregister* de SPM. La imagen de resonancia magnética en T1 fue normalizada utilizando la plantilla T1 proporcionada por SPM8 del Montreal Neurological Institute (MNI) para definir los parámetros de normalización. Los mismos parámetros se aplicaron posteriormente para normalizar la imagen PET al espacio MNI (método de normalización indirecta) (*Battaglini, Jenkinson, & De Stefano, 2012*).

Se realizó un análisis de una región de interés (ROI por sus siglas en inglés *Region Of Interest*) utilizando el software MarsBaR y *Anatomical Automatic Labelling* (AAL) atlas (*Tzourio-Mazoyer et al., 2002*). Se utilizó el mapa de lesiones para evaluar la captación del trazador en DWM, en NAWM y en la sustancia gris.

La NAWM se calculó restando los mapas de probabilidad de lesión de sustancia blanca (DWM, por las siglas en inglés de *Damaged White Matter*) a la sustancia blanca total segmentada (*J. A. Matías-Guiu et al., 2015*). Como en otros estudios publicados previamente con PET amiloide en EM el cerebelo fue utilizado como región de referencia (*J.*

A. Matias-Guiu et al., 2015; Pietroboni et al., 2018; Zeydan et al., 2018).

Los pacientes incluidos no presentaron un deterioro significativo del cerebelo de acuerdo con la RM; si se detectaba alguna lesión cerebelosa, ésta se enmascaró y excluyó del análisis. La autora de la tesis y uno de los directores controlaron visualmente todos los pasos de preprocesamiento y los corrigieron si era necesario (figura 3.3). La autora recibió previamente un entrenamiento específico y supervisado en análisis de neuroimagen.

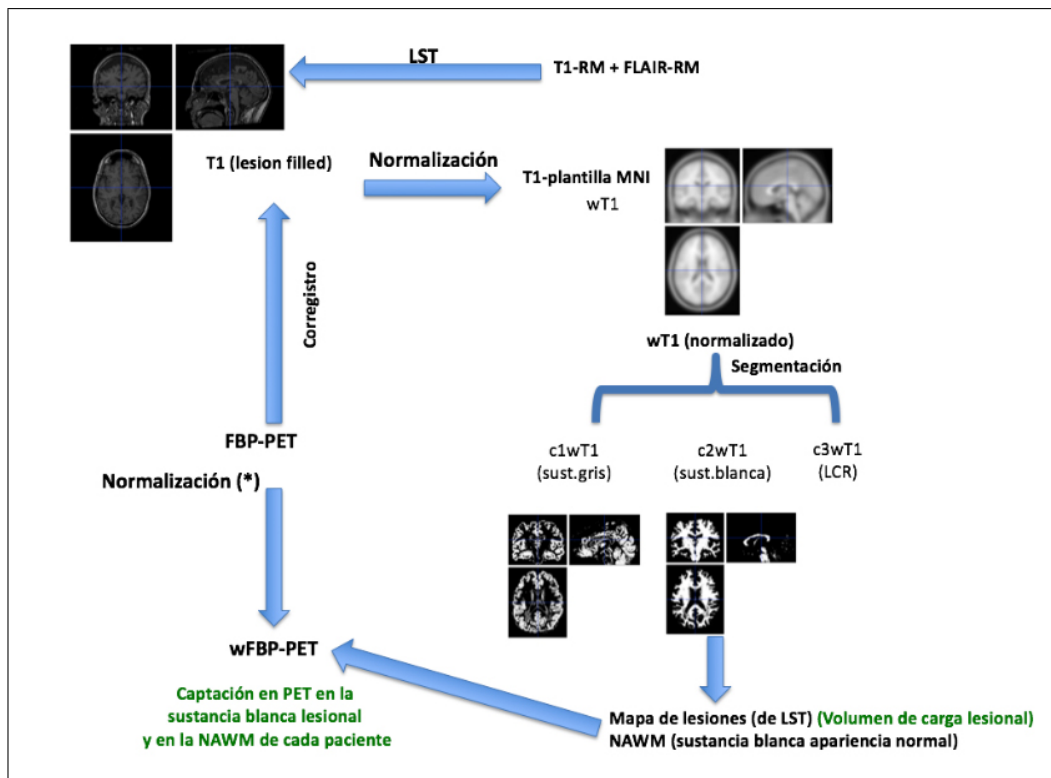


Figura 3.3: Preprocesado para el análisis de las neuroimágenes (RM y PET) de los casos incluidos en el estudio. **FBP:** *Filtered Back-projection*; **NAWM:** *Normal Appearing White Matter*

Se incluyó un grupo control sano para el análisis de neuroimagen. Comprendía 8 sujetos que fueron estudiados con RM cerebral y ^{18}F - florbetabén PET. Tres de ellos fueron reclutados en nuestro centro entre los cónyuges de pacientes con trastornos neurológicos. Se obtuvieron datos de otros 5 controles sanos de la base de datos *Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative* (ADNI) (adni.loni.usc.edu) Una lista completa de los investigadores de ADNI puede encontrarse en http://adni.loni.usc.edu/wp-content/uploads/how_to_apply/ADNI_Acknowledgment_List.pdf. Dicho grupo control se apareó por edad y sexo con el grupo de mayor edad y tiempo de evolución de la serie de pacientes con EM incluidos en la tesis.

Se comparó el grupo de control con 8 pacientes con EM de la cohorte del presente estudio, y no se observaron diferencias en edad (grupo control sano $56,37 \pm 5,57$ vs $56,37 \pm 6,34$ en el grupo con EM, $p=0,792$). Se realizó un análisis con la prueba de T para muestras pareadas del mapeo cerebral basado en vóxel para comparar ambos grupos. Se utilizó un p-valor $<0,001$ para la corrección de comparaciones múltiples y el umbral de tamaño de clúster fue $k=50$.

3.7. Análisis estadístico

Los datos fueron almacenados en una base de datos anonimizada para su análisis estadístico posterior mediante el programa IBM SPSS Statistics 20.0. En el análisis descriptivo de los datos, las variables ca-

tegorías cualitativas se mostraron como frecuencias absolutas y porcentajes ($n(\%)$) mientras que las variables cuantitativas continuas se presentaron como medias \pm SD o mediana [rango intercuartílico, Q1-Q3] dependiendo de la distribución de normalidad de los datos, que fue comprobada mediante la prueba de *Kolmogorov-Smirnov*.

Se utilizaron las pruebas de *Mann-Whitney U* y *Kruskall-Wallis* para comparar variables continuas independientes entre dos grupos o más grupos respectivamente, y la prueba de chi cuadrado para comparar muestras independientes con variables cualitativas.

Para mediciones repetidas, se utilizó la prueba T para muestras apareadas después de comprobar la distribución normal de la muestra de acuerdo con la prueba de *Kolmogorov-Smirnov*.

Las correlaciones entre las medidas de neuroimagen y las puntuaciones escalares ajustadas por edad y educación para las pruebas neuropsicológicas se calcularon usando el coeficiente de *Spearman*. Las correlaciones se interpretaron de la siguiente manera (*Ibujés & Orlando, 2011*):

- Muy baja (0,01-0,19)
- Baja (0,20-0,39)
- Moderada (0,40-0,69)
- Alta (0,70-0,89)
- Muy alta (0,90-0,99)

- Correlación perfecta (1)
- Correlación nula (0)

Con el fin de determinar la capacidad discriminativa de los parámetros de PET con respecto a la evolución de los pacientes con EM incluidos en el estudio se utilizó la curva ROC (*Receiver operating characteristic curve*).

En el análisis de las imágenes PET se calculó el porcentaje de cambio entre NAWM y DWM de la siguiente manera: DWM captación menos NAWM captación, dividido por la captación NAWM y multiplicado por 100.

Los resultados se expresaron en números con dos decimales. La significación estadística se estableció aplicando una corrección para comparaciones múltiples con la técnica de ratio de falsos positivos, "*False Discovery Rate*" (FDR), que controla la proporción de falsos positivos en el estudio (*Benjamini & Hochberg, 1995*). Se consideró un nivel de significación de $\alpha=0,05$, por lo que se rechazó la hipótesis nula y se consideraron estadísticamente significativos los contrastes de hipótesis en que el p-valor fue menor de 0,05.

3.8. Aspectos éticos

Los pacientes o sus tutores legales firmaron un consentimiento informado para su inclusión y participación en el estudio. Dada la inocuidad

de las pruebas realizadas, se consideró un estudio de mínimo riesgo. Los datos fueron manejados conforme a la ley española la de protección de Datos (*Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre*), fueron archivados con protección, de forma que sólo tenían acceso a los mismos los investigadores autorizados. El proyecto se realizó de acuerdo a las normas de Helsinki (*Recommendations Guiding Physicians in Biomedical Research Involving Human Subjects, Helsinki 1964, enmendadas en octubre de 2013*). El Comité de Ética e Investigación Clínica del Hospital Clínico San Carlos revisó y aprobó el protocolo de investigación (**C.P. - C.I. 15/028-E**).

Capítulo 4

Resultados

Con los pacientes incluidos en el estudio y la aplicación de los métodos descritos previamente, se obtuvieron los resultados que se reseñan a continuación.

4.1. Descripción de las características clínicas, cognitivas y de neuroimagen

4.1.1. Características generales de la cohorte

Se incluyeron 29 pacientes, 17 mujeres (58,60 % de la muestra), 12 varones (41,40 % de la muestra), con una edad media al momento de inclusión en el estudio de $44,41 \pm 8,75$ años, con una edad media de inicio de la enfermedad de $29,93 \pm 8,80$ años (*figura 4.1*).

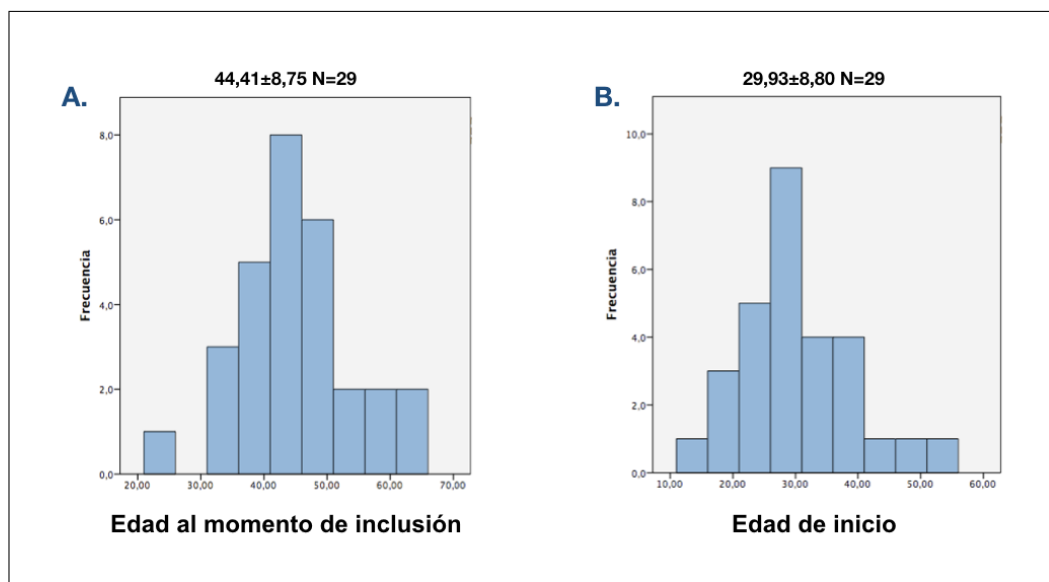


Figura 4.1: **A.** Edad de los pacientes incluidos en el estudio. **B.** Edad de inicio de la enfermedad. Gráficos de frecuencias.

De los 29 casos incluidos, 18 (62,07 %) presentaron al inicio del estudio una forma clínica de la enfermedad recurrente remitente, 6 (20,69 %) secundaria progresiva y 5 (17,24 %) primaria progresiva (figura 4.2).

El tiempo de evolución de la enfermedad de los pacientes incluidos en el estudio, considerado como el tiempo en años desde la aparición del primer síntoma neurológico relacionado con la enfermedad (información obtenida mediante interrogatorio directo) fue de $14,48 \pm 6,05$ años, con una puntuación de la EDSS al momento de inclusión de $3,56 \pm 1,76$ (4; IQR 2-5) (tabla 4.1), con una mediana de brotes al momento de inclusión en el estudio de 5,00 (IQR 1,75-10), y un índice de brotes por unidad de tiempo de evolución de la enfermedad en años de 0,36 (IQR 0,10-0,87).

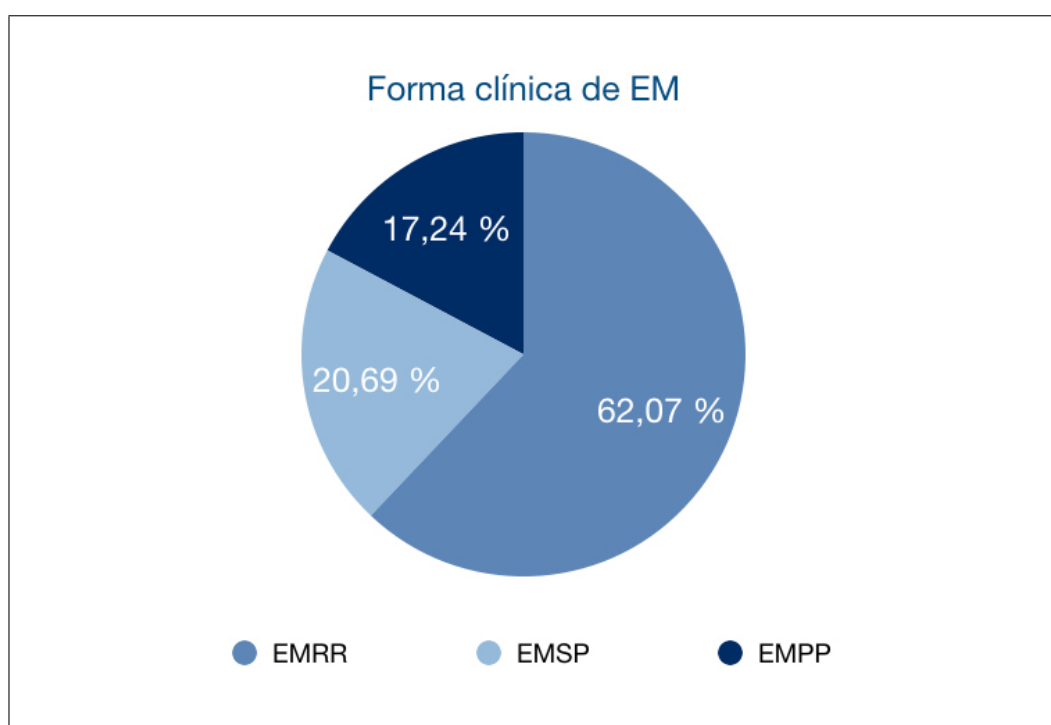


Figura 4.2: Frecuencia de las formas clínicas de EM de los pacientes incluidos en el estudio. **EMPP:** Esclerosis Múltiple Primaria-Progresiva; **EMRR:** Esclerosis Múltiple Recurrente-Remitente; **EMSP:** Esclerosis Múltiple Secundaria Progresiva

Tabla 4.1: Características demográficas y clínicas.

	Casos incluidos en el estudio (n=29)
Edad al momento de inclusión en el estudio	44,41±8,75
Sexo (mujeres)	17 (58,62 %)
Edad de inicio de la enfermedad	29,93±8,80
Tiempo de evolución (años)	14,48±6,05
Escolaridad (años)	16,10±3,13
Forma clínica de la enfermedad	EMRR: 18 (62,06 %) EMSP: 6 (20,68 %) EMPP: 5 (17,24 %)
EDSS al momento de inclusión	3,56±1,76 (Mediana 4; IQR 2-5)

Del total de los casos de la cohorte de estudio 7 (24,14 %) tenían antecedentes personales de otras enfermedades, 1 (3,45 %) anemia perniciosa, 1 (3,45 %) cáncer de mama (libre de enfermedad al momento de inclusión en el estudio), 1 (3,45 %) enfermedad bipolar no descompensada y 4 (13,79 %) de ellos presentaban antecedentes personales de otras enfermedades autoinmunes, 1 (3,45 %) enfermedad de Crohn, 1 (3,45 %) psoriasis, 1 (3,45 %) enfermedad de Graves-Basedow, 1 (3,45 %) fiebre reumática.

Asimismo, 5 (17,24 %) de los pacientes presentaban historia familiar de EM (1 (3,45 %) madre con EM, 2 (6,90 %) hermanos con EM y 1 (3,45 %) prima hermana con EM, 1 (3,45 %) tía abuela con EM).

Finalmente, respecto al tratamiento modificador de la enfermedad

al momento de inclusión en el estudio, 2 (6,90 %) casos estaban con interferón B 1a (Rebif®), 2 (6,90 %) con acetato de glatirámero (Copaxone®), 10 (34,48 %) con fingolimod (Gilenya®), 3 (10,34 %) con natalizumab (Tysabri®), 3 (10,34 %) con teriflunomida (Aubagio®), 3 (10,34 %) con azatioprina (Inmurel®) y 6 (20,69 %) se encontraban sin tratamiento modificador de la enfermedad (*figura 4.3*).

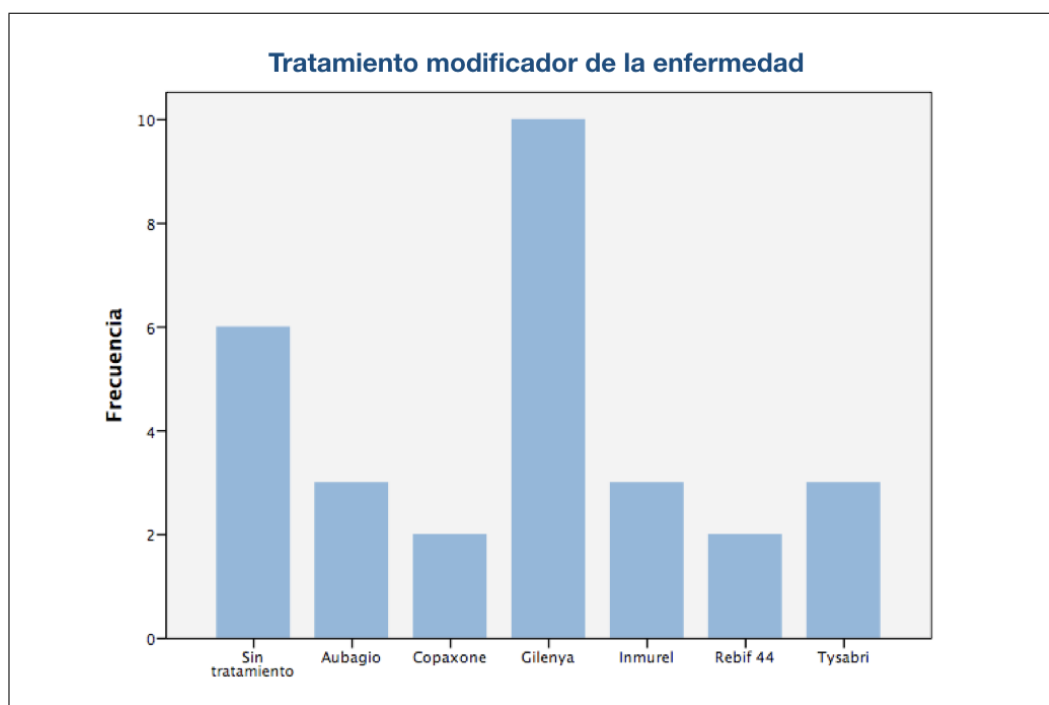


Figura 4.3: Tratamientos modificadores de la enfermedad

4.1.2. Características del grupo con EMRR

Los casos EMMR (18; 62,10 %) tenían una media de edad al momento de inclusión de $39,61 \pm 5,72$ años.

La media de edad de inicio de la enfermedad en este grupo fue de $26,44 \pm 5,70$; con una EDSS de $2,88 \pm 1,48$ (3; IQR 1,37-4) (*figura 4.4*), una mediana de brotes de 5 (IQR 3-10) y un índice de brotes por unidad de tiempo de $0,76 \pm 0,72$. La media del tiempo de evolución de la enfermedad a momento de inclusión al estudio de este grupo fue $13,16 \pm 5,41$ años.

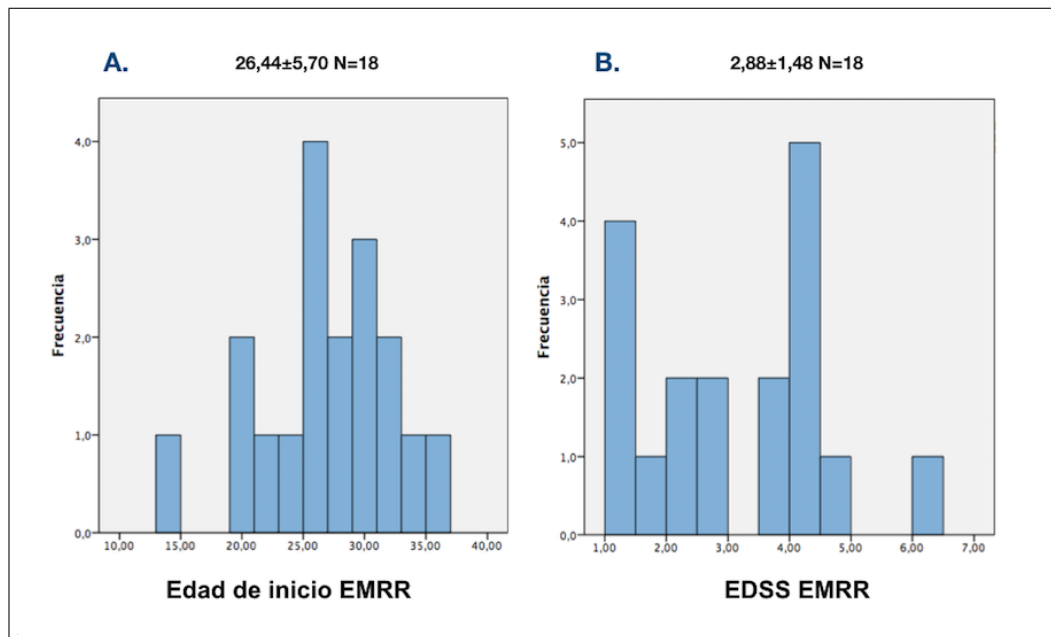


Figura 4.4: A. Edad de inicio de la enfermedad de los pacientes con EMRR. Gráfico de frecuencias. B. EDSS al momento de inclusión de los pacientes con forma clínica EMRR.

4.1.3. Características del grupo con EMSP

Los casos con una forma clínica secundaria progresiva de la enfermedad (6; 20,70 %) tenían una media de edad al momento de inclusión de $48,50 \pm 5,31$ años.

La media de edad de inicio de la enfermedad en este grupo fue de $29,16 \pm 7,52$; con una EDSS de $5,08 \pm 1,46$ (5,25; IQR 4,37-5,87) (*figura 4.5*). La media del tiempo de evolución de la enfermedad a momento de inclusión al estudio de este grupo fue $19,33 \pm 7,47$ años.

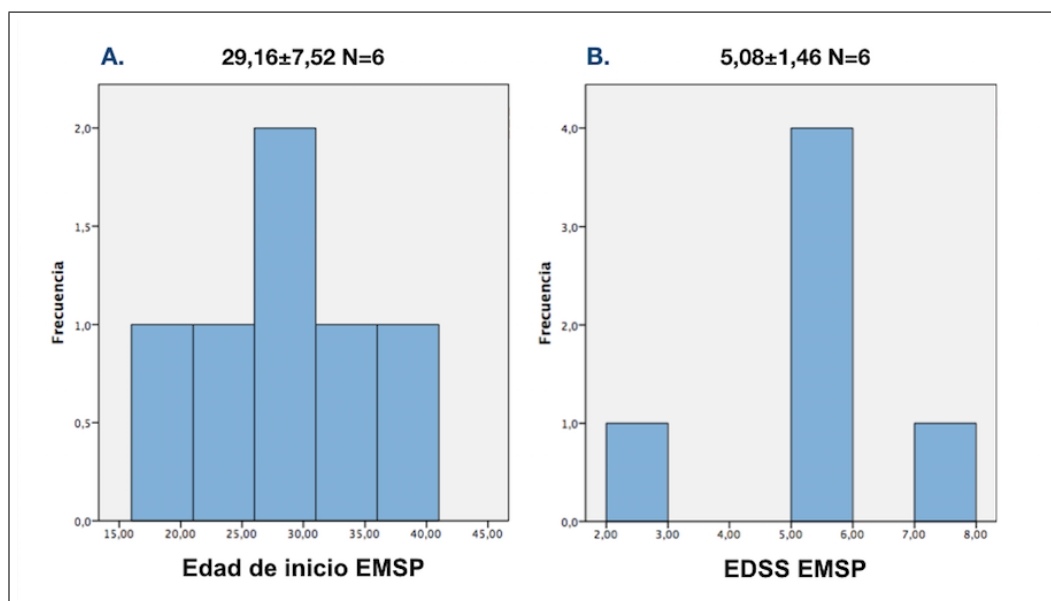


Figura 4.5: A. Edad de inicio de la enfermedad de los pacientes con EMSP. Gráfico de frecuencias. B. EDSS al momento de inclusión de los pacientes con forma clínica EMSP.

4.1.4. Características del grupo con EMPP

Los casos con una forma clínica primaria progresiva de la enfermedad (5; 17,20 %) tenían una media de edad al momento de inclusión de $56,80 \pm 6,41$ años.

La media de edad de inicio de la enfermedad en este grupo fue de $43,40 \pm 7,16$ años; con una EDSS de $4,20 \pm 1,95$ (4,50; IQR 2,50-5,75) (*figura 4.6*). La media del tiempo de evolución de la enfermedad a momento de inclusión al estudio de este grupo fue $13,40 \pm 4,21$ años.

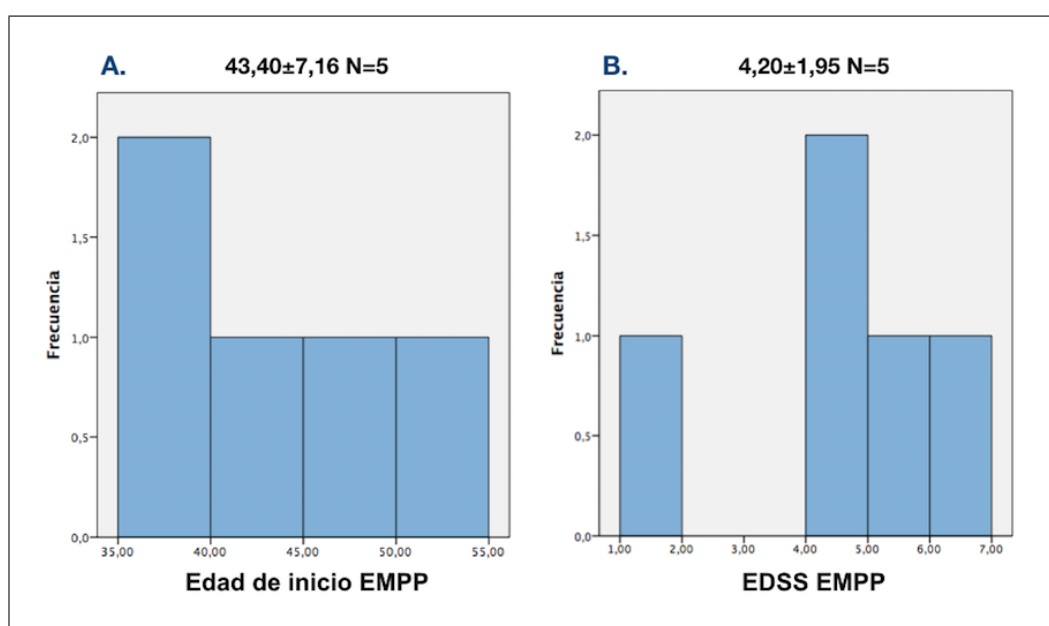


Figura 4.6: A. Edad de inicio de la enfermedad de los pacientes con EMPP. Gráfico de frecuencias. B. EDSS al momento de inclusión de los pacientes con forma clínica EMPP.

4.1.5. Descripción de la evaluación cognitiva

Todos los pacientes al momento de inclusión en el estudio fueron evaluados mediante el protocolo que se detalla en el apartado de metodología (ver 3.4 Protocolo de estudio).

La media de escolaridad de los pacientes de esta cohorte fue $16,10 \pm 3,13$ años (*figura 4.7*): Los 29 (100 %) casos incluidos eran castellano hablantes, 27 (93,10 %) eran diestros y 2 (6,90 %) eran zurdos.

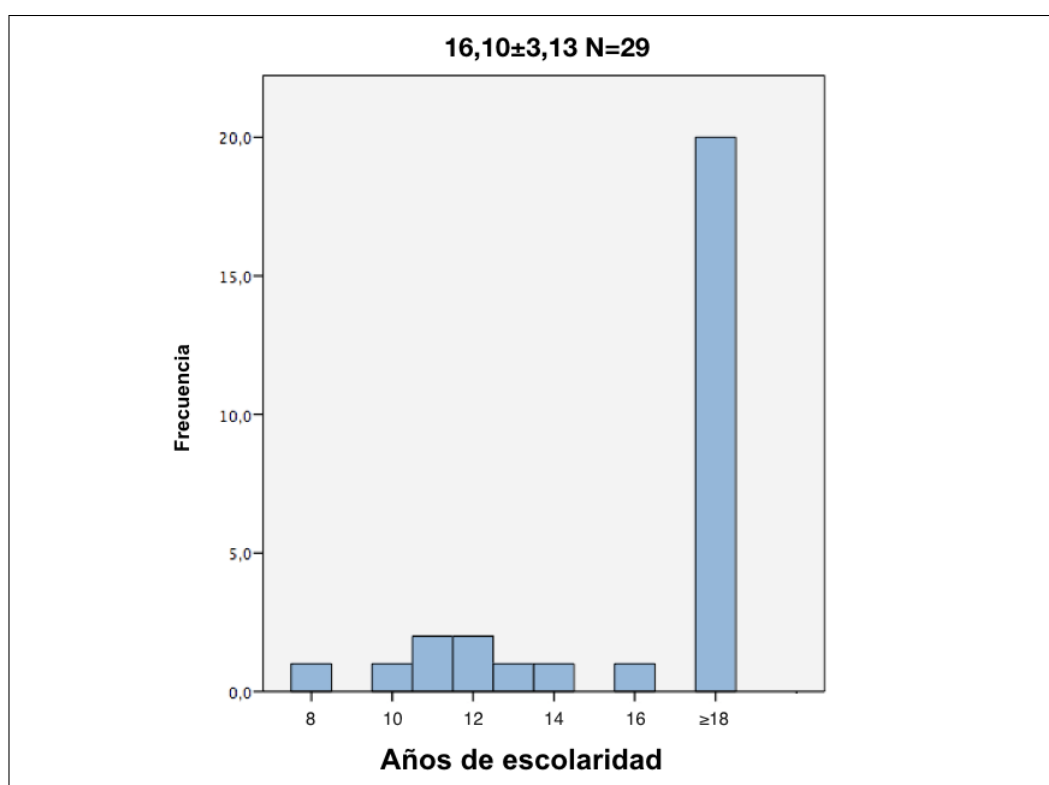


Figura 4.7: Años de escolaridad de los pacientes incluidos en el estudio. Gráfico de frecuencias.

De acuerdo a los criterios establecidos en metodología, 11 (37,93 %) de los pacientes estudiados presentaban déficit cognitivo, 9 (31,03 %) estaban cognitivamente preservados y 9 (31,03 %) sólo tenían afectado un dominio cognitivo (1 (3,45 %) atención-función ejecutiva, 3 (10,34 %) IPS, 4 (13,79 %) memoria, 1 (3,45 %) VEI) (*figura 4.8*). De los pacientes con déficit cognitivo, 10 tenían 3 dominios alterados y un caso (3,45 %) presentaba dos dominios cognitivos afectados, IPS y VE.

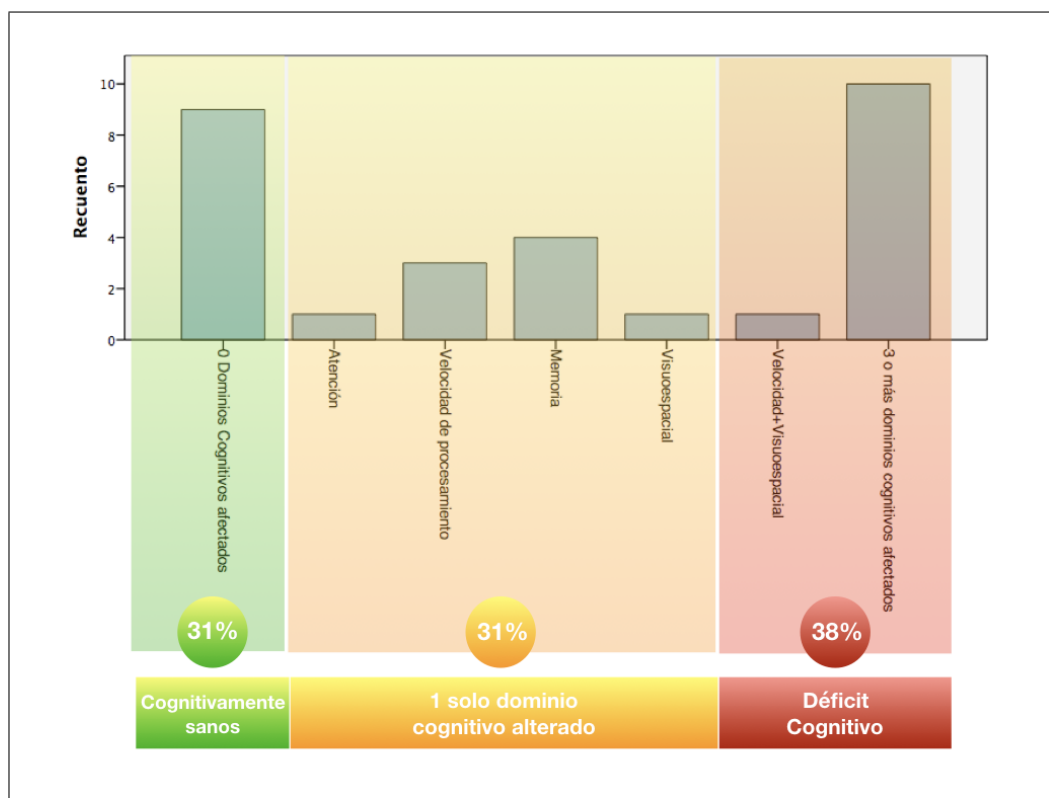


Figura 4.8: Hallazgos de la evaluación cognitiva en los pacientes del estudio. Gráfico de frecuencias.

Siete de los casos (24,14 %) solo tenían afectado un test, 1 (3,45 %) presentaba dos test alterados, 12 (41,38 %) evidenciaban percentil por debajo de 6 en tres o más de los test evaluados (*tabla 4.2*).

Tabla 4.2: Evaluación cognitiva de la cohorte de estudio. Test alterados con un percentil menor o igual a 5 ajustados por edad, género y años de escolaridad según datos normativos del Proyecto NEURONORMA. Dominios cognitivos alterados según criterios detallados en metodología. **BNT:** *Boston Naming Test*; **FA:** Fluencia animal; **FCRO:** Figura Compleja de Rey-Osterrieth; **FCSRT:** *Free and Cued Selective Reminding Test*; **FF:** Fluencia formal; **IPS:** *Information processing speed*; **JLO:** *Judgment of Line Orientation*; **NA:** no alterado; **SDMT:** *Symbol Digit Modalities Test*; **TMT:** *Trail Making Test*; **ToL:** Torres de Londres; **VE:** visuoespacial.

Caso	Test alterados	Dominios alterados
1	NA	NA
2	FCRO	MEMORIA
3	JLO	VE
4	SDMT, FA, FF, STROOP, ToL	ATENCIÓN-EJECUTIVO, IPS, VE, MEMORIA
5	TMT, SDMT, JLO, FCRO, STROOP, FCSRT	ATENCIÓN-EJECUTIVO, IPS, VE, MEMORIA
6	FCRO	MEMORIA
7	NA	NA
8	CORSI, TMT, BOSTON, FCSRT, STROOP, FCRO, ToL, JLO, FA	ATENCIÓN-EJECUTIVO, IPS, VE, MEMORIA, LENGUAJE

Sigue en la página siguiente.

Caso	Test alterados	Dominios alterados
9	STROOP	IPS
10	NA	NA
11	CORSI, TMT, SDMT, FCSRT, STROOP, FCRO, ToL, FA	ATENCIÓN-EJECUTIVO, IPS, MEMORIA, LENGUAJE
12	TMT, SDMT, STROOP	IPS
13	CORSI, TMT, SDMT, STROOP	IPS
14	SDMT, JLO, ToL, FF	ATENCIÓN-EJECUTIVO, IPS, VE
15	NA	NA
16	TMT, SDMT, BOSTON, FCSRT, STROOP, FCRO	ATENCIÓN-EJECUTIVO, IPS, MEMORIA, LENGUAJE
17	NA	NA
18	ToL	ATENCIÓN-EJECUTIVO
19	FCSRT	MEMORIA
20	FCSRT	MEMORIA
21	TMT, FCSRT, STROOP	ATENCIÓN-EJECUTIVO, IPS, MEMORIA
22	NA	NA
23	NA	NA

Sigue en la página siguiente.

Caso	Test alterados	Dominios alterados
24	TMT, SDMT, ToL, FCSRT, STROOP, FCRO, JLO, FA	ATENCIÓN-EJECUTIVO, VE, MEMORIA, LENGUAJE
25	NA	NA
26	TMT, JLO	IPS, VE
27	TMT, SDMT, ToL, FCSRT, STROOP, JLO	ATENCIÓN-EJECUTIVO, VE
28	SPAN, TMT, ToL, FCSRT, FCRO, STROOP, JLO, FA	ATENCIÓN-EJECUTIVO, IPS, VE, MEMORIA, LENGUAJE
29	NA	NA

Al analizar por forma clínica de la enfermedad observamos que de los pacientes cognitivamente sanos 7 (24,14 %) eran EMRR, 1 (3,45 %) EMSP y 1 (3,45 %) EMPP. En la tabla presentada a continuación se observa la frecuencia de dominios cognitivos alterados según la forma clínica de EM (*tabla 4.3*).

Finalmente, se analizó la relación entre alteración cognitiva, edad, años de escolaridad, tiempo de evolución de la enfermedad, edad de inicio de la EM y EDSS, observándose una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos con al menos un dominio cognitivo afectados y los cognitivamente sanos en la puntuación de la EDSS ($p=0,024$) (*tabla 4.4*).

Tabla 4.3: Frecuencia de dominios cognitivos alterados por grupos según forma clínica de la enfermedad.

Número de dominios cognitivos alterados	EMRR (n=18)	EMSP (n=6)	EMPP (n=5)
0	7 (38,89 %)	1 (16,67 %)	1 (20 %)
1	8 (44,45 %)	1 (16,67 %)	0 (0 %)
2	0 (0 %)	0 (0 %)	1 (20 %)
3 o más	3 (16,67 %)	4 (66,67 %)	3 (60 %)

Tabla 4.4: Datos clínicos y demográficos entre los grupos según estado cognitivo. Datos comparativos de edad, años de escolaridad, edad de inicio de la enfermedad, tiempo de evolución de la EM y EDSS entre los grupos con alteraciones cognitivas y sin alteraciones cognitivas. U: *Mann-Whitney U*. (*) p-valor <0,05. Para la variable sexo se utilizó la prueba de chi cuadrado.

	Cognitivamente sanos (n=9)	1 o más dominios cognitivos alterados (n=20)	U (p-valor)
Edad	42,00±11,41	45,50±7,35	67,50 (0,287)
Sexo	Mujeres: 5 (5,56 %) Varones: 4 (4,44 %)	Mujeres: 12 (60 %) Varones: 8 (40 %)	0,051 (1,000)
Edad de inicio de EM	29,11±7,78	30,30±9,39	85,00 (0,813)
Tiempo de evolución EM (años)	12,88±7,35	15,20±5,43	65,50 (0,247)
EDSS*	2,44±1,68	4,07±1,59	42,50 (0,024)

4.1.6. Depresión y fatiga

La puntuación media del IDB fue $11,31 \pm 7,69$. De acuerdo a los criterios previamente establecidos 15 (51,72 %) de los pacientes no presentaban depresión, mientras que 10 (34,48 %) evidenciaban un cuadro compatible con un ligero trastorno del estado de ánimo o "*bordeline*" y 4 (13,79 %) evidenciaban síntomas de depresión (*figura 4.9*).

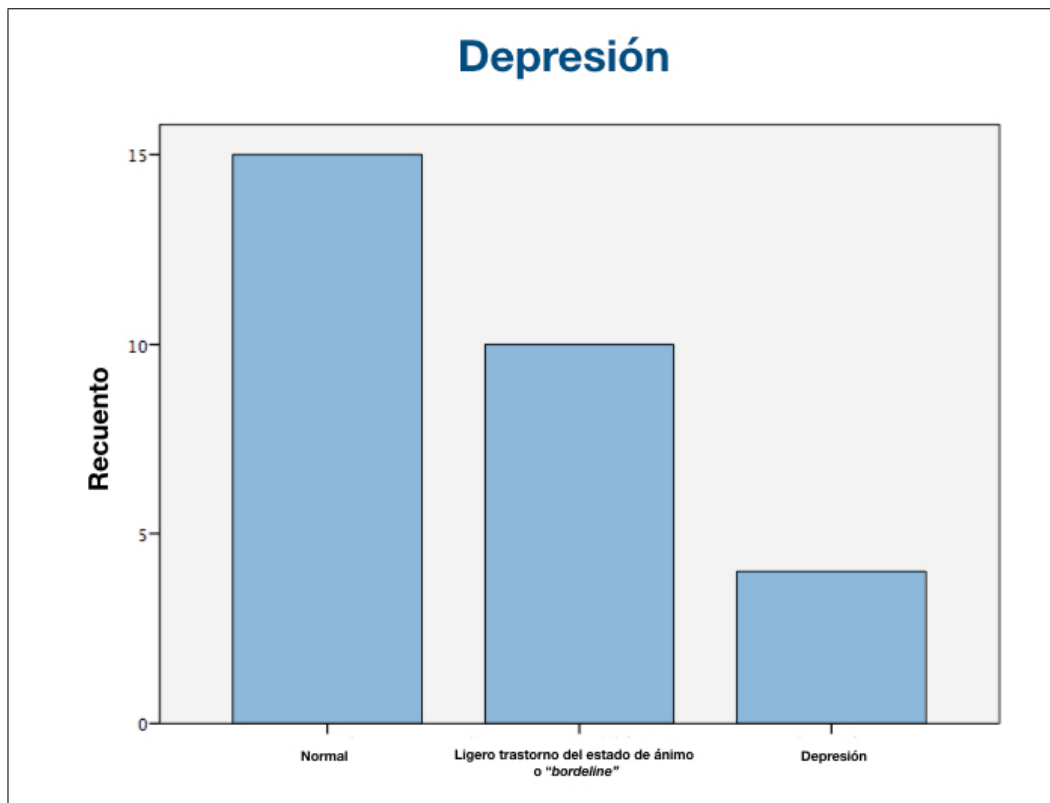


Figura 4.9: Frecuencia de depresión en los pacientes incluidos en el estudio. Resultados obtenidos mediante el Inventario de Depresión de Beck. Gráfico de frecuencias.

Con el objetivo de evaluar la fatiga en nuestra población se utilizó

la FSS obteniéndose una media de $44,44 \pm 16,20$; observándose que 21 (72,41 %) de los casos presentaban fatiga según los resultados obtenidos (figura 4.10).

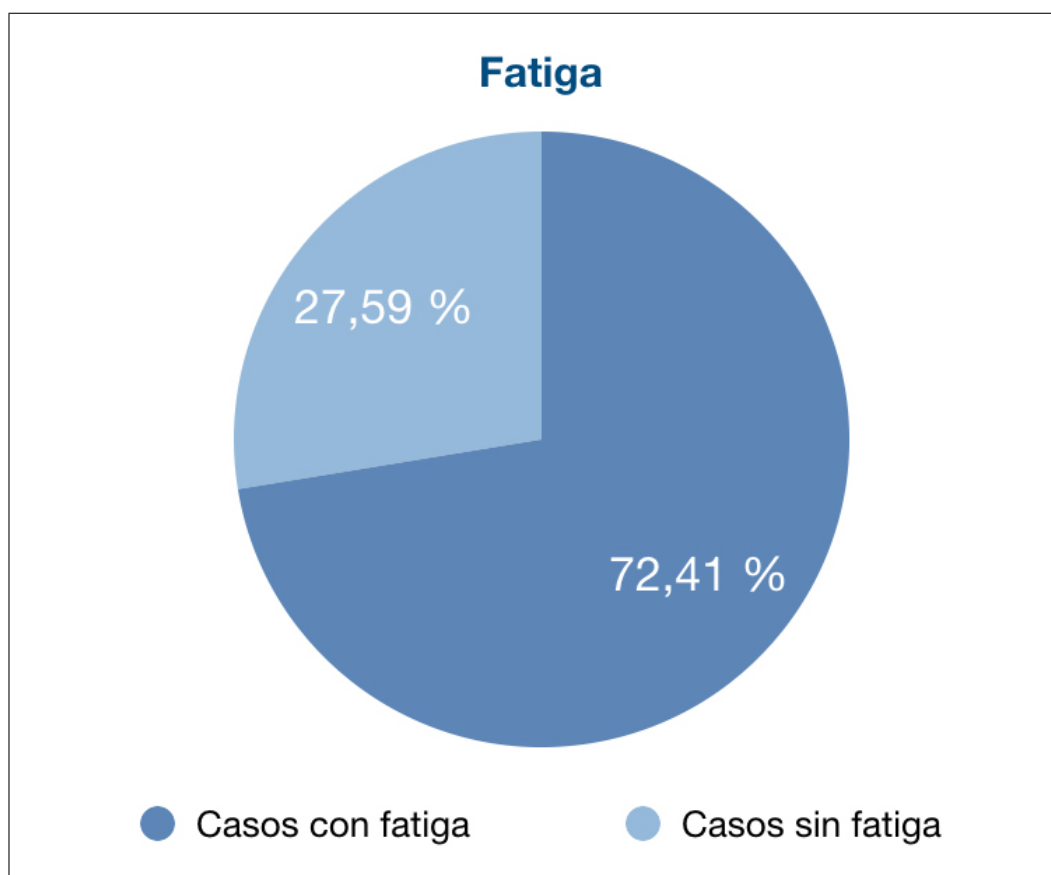


Figura 4.10: Frecuencia de fatiga en los pacientes incluidos en el estudio. Resultados obtenidos mediante la *Fatigue Severity Scale* (FSS). Gráfico de frecuencias.

Se analizaron las correlaciones entre los resultados obtenidos de la FSS y el IDB con los test neuropsicológicos incluidos en el protocolo.

Se observó que la IDB tenía una correlación moderada con la FSS ($r=0,63$; $p<0,001$; p ajustado $<0,001$), FCSRT ($r=-0,51$; $p=0,002$; p ajustado $=0,023$), FCRO tiempo y reconocimiento ($r=-0,49$; $p=0,003$; p ajustado $=0,031$; $r=-0,46$; $p=0,006$; p ajustado $=0,023$ respectivamente), Stroop 2 y 3 ($r=-0,48$; $p=0,004$; p ajustado $=0,025$; $r=-0,45$; $p=0,006$; p ajustado $=0,021$), Corsi inverso ($r=-0,44$; $p=0,008$; p ajustado $=0,023$), y una correlación baja con el TMTa ($r=-0,39$; $p=0,018$; p ajustado $=0,043$), y fluencias animal y p ($r=-0,38$; $p=0,021$; p -ajustado $=0,047$; $r=-0,38$; $p=0,024$; p ajustado $=0,049$).

La FSS presentó una correlación moderada con la IDB ($r=0,63$; $p<0,001$; p ajustado $<0,001$), FCRO tiempo ($r=-0,50$; $p=0,002$; p ajustado $=0,021$), Stroop 2 y 3 ($r=-0,51$; $p=0,002$; p ajustado $=0,016$; $r=-0,44$; $p=0,007$; p ajustado $=0,043$), Corsi inverso ($r=-0,43$; $p=0,009$; p ajustado $=0,047$), FCSRT ($r=-0,51$; $p=0,010$; p ajustado $=0,044$), y fluencia animal ($r=-0,42$; $p=0,011$; p ajustado $=0,042$).

Asimismo, se observó una correlación directa y moderada de ambas escalas (IDB y FSS) con la EDSS ($r=0,47$; $p=0,005$; p ajustado $=0,026$; $r=0,61$; $p<0,001$; p ajustado $<0,001$).

4.1.7. Resonancia magnética cerebral

Los 29 casos incluidos en el estudio se realizaron RM cerebral. A continuación se detallan los resultados obtenidos del análisis de los volúmenes cerebrales.

La media del volumen cerebral total (TIV) fue de $1473,01 \pm 100,19$ ml, el de sustancia blanca (WM) $731,06 \pm 67,51$ ml y el de sustancia gris (GM) $741,95 \pm 68,48$ ml.

Se analizó mediante LST de SPM el mapa de lesiones y se calculó el volumen lesional de WM obteniéndose una media de $11,65 \pm 10,31$ ml. Mediante segmentación manual se calculó el volumen de agujeros negros ($3,32 \pm 3,48$ ml).

Asimismo, se analizó el volumen de los tálamos, observándose una media de 14.80 ± 2.20 ml.

Se observó una correlación positiva y moderada de la EDSS con el volumen de carga lesional de WM ($r=0,43$; $p=0,009$) y una correlación negativa moderada con el volumen de WM ($r=-0,49$; $p=0,003$) y con el volumen talámico ($r=-0,40$; $p=0,014$).

Posteriormente se realizó un análisis comparativo de los volúmenes de TIV, WM y GM, tálamos, carga lesional y agujeros negros entre los grupos con deterioro cognitivo (11 (37,93 %)) y los casos cognitivamente sanos (9 (31,03 %)) sin observarse diferencias significativas. Los resultados se ven reflejados en la tabla 4.5.

Tabla 4.5: Datos comparativos de volúmenes cerebrales entre los grupos según el estado cognitivo. Datos comparativos de volúmenes de TIV, nWM, nGM, tálamos, carga lesional y agujeros negros entre los grupos con deterioro cognitivo y los casos cognitivamente sanos. U: *Mann-Whitney U*. (*) p-valor <0,05.

	Casos con deterioro cognitivo (n=11)	Casos cognitivamente sanos (n=9)	U (p-valor)
TIV (ml)	1468,11±96,43	1506,27±102,42	40,00 (0,470)
nWM (ml)	732,29±59,70	741,36±69,50	46,00 (0,790)
nGM (ml)	735,81±54,67	764,91±77,00	42,00 (0,569)
Volumen lesional (ml)	14,60±13,08	7,37±7,16	34,00 (0,239)
Volumen agujeros negros (ml)	4,49±5,01	2,42±2,23	48,00 (0,909)
Tálamos (ml)	15,02±1,68	15,33±2,41	47,00 (0,849)

De igual forma, se analizaron las diferencias entre los grupos de pacientes con fatiga (n=21) y sin fatiga (8) según la FSS y se observaron diferencias significativas en TIV, el volumen de WM normalizados por el TIV, carga lesional y tálamos. En la tabla 4.6 se ven reflejados los resultados obtenidos.

Finalmente, se analizaron las correlaciones observadas entre las mediciones generales en las RM basales de los 29 casos con los diferentes test neuropsicológicos incluidos en el protocolo de estudio, IDB y FSS. Tras realizar la corrección por comparaciones múltiples sólo fue significativa una correlación positiva moderada entre el IDB y la carga lesional ($r=0,55$; $p=0,001$; p ajustado=0,032).

Por otro lado, el estudio de la correlación entre volúmenes talámicos y los diferentes volúmenes cerebrales medidos, evidenció una correlación moderada con el volumen de GM ($r=0,54$; $p=0,001$; p ajustado= $0,018$) y con el volumen de WM ($r=0,60$; $p<0,001$; p ajustado $<0,001$).

Tabla 4.6: Datos comparativos de volúmenes cerebrales entre los grupos según la presencia de fatiga. Datos comparativos de volúmenes de TIV, nWM, nGM, tálamo, carga lesional y agujeros negros entre los grupos con fatiga y sin fatiga según la FSS. U: *Mann-Whitney U*. (*) p -valor $<0,05$.

	Casos con fatiga (n=21)	Casos sin fatiga (n=8)	U (<i>p</i>-valor)
TIV (ml)*	1441,50 \pm 79,32	1555,74 \pm 106,66	26,00 (0,005)
nWM (ml)*	712,17 \pm 59,92	780,64 \pm 63,96	35,00 (0,017)
nGM (ml)	729,32 \pm 56,04	775,09 \pm 89,73	52,00 (0,118)
Volumen lesional (ml)*	14,03 \pm 10,72	5,39 \pm 5,90	38,00 (0,025)
Agujeros negros (ml)	3,67 \pm 3,79	2,40 \pm 2,46	69,00 (0,479)
Tálamo (ml)*	13,98 \pm 1,67	16,94 \pm 2,06	20,00 (0,002)

4.2. PET amiloide con radiotrazador ^{18}F florbetabén

4.2.1. Descripción general

En esta sección se presentan los resultados del análisis de las PET con ^{18}F -florbetabén de los 29 pacientes incluidos en el estudio.

Se calculó el valor de captación relativa del NAWM tomando como región de referencia el cerebelo, "*standardised uptake value (SUV) relative to the cerebellar reference region of interest*" (SUV_{Rc}) ($1,61 \pm 0,15$), y el SUV_{Rc} del DWM ($1,31 \pm 0,14$), observando una correlación positiva de 0,62 ($p < 0,001$) entre ambos.

Se ha calculado el porcentaje de cambio y se obtuvo una media de $-18,32 \pm 7,87 \%$.

4.2.2. Comparación entre EM y controles

El subgrupo de 8 pacientes con EM que se comparó con los 8 controles mostró una disminución de la absorción de ^{18}F -florbetabén en la WM periventricular alrededor de las astas posteriores en comparación con el grupo control. Por el contrario, no hubo regiones con mayor captación del trazador entre ambos grupos. El SUV_{Rc} en NAWM fue menor, pero no significativo, en la EM ($1,68 \pm 0,16$ vs $1,82 \pm 0,13$, $p = 0,172$). La captación de DWM en la EM fue menor que en la WM total en los controles ($1,27 \pm 0,12$ vs $1,82 \pm 0,13$, $p < 0,001$).

4.2.3. Relación de los resultados de la PET amiloide con las características clínicas y cognitivas de la población

Al comparar los resultados obtenidos del análisis de la PET con las tres formas de presentación clínica de la enfermedad observamos diferencias significativas en el SUVRc NAWM ($x^2=6,80$; $p=0,033$) y en el porcentaje de variación ($x^2=6,23$; $p=0,044$), pero en cambio no en el SUVRc DWM ($x^2=0,25$; $p=0,883$) (tabla 4.7).

Tabla 4.7: Datos comparativos del SUVRc NAWM, SUVRc DWM, porcentaje de variación entre los grupos EMRR, EMSP y EMPP. x^2 : *Kruskal-Wallis*. (*) p-valor <0,05.

	EMRR (n=18)	EMSP (n=6)	EMPP (n=5)	x^2 (p-valor)
SUVRc NAWM(*)	1,57±0,15	1,60±0,09	1,77±0,11	6,805 (0,033)
SUVRc DWM	1,31±0,14	1,29±0,18	1,33±0,11	0,250 (0,883)
Porcentaje de variación (*)	-16,04±7,51	-19,67±7,83	-24,94±6,09	6,230 (0,044)

Asimismo, al analizar la relación con la EDSS basal de los casos incluidos en el estudio con el SUVRc NAWM controlado por la forma clínica de la enfermedad se observó una correlación negativa entre ambas variables ($r=-0,37$; $p=0,050$).

También se llevó a cabo un análisis corregido por comparaciones

múltiples de las correlaciones del SUVRc NAWM y SUVRc DWM con los resultados obtenidos en los test neuropsicológicos realizados en la evaluación basal. Se observó que el SUVRc NAWM se correlacionó en forma moderada y positiva con la copia de la FCRO ($r=0,49$; $p=0,003$; p ajustado= $0,049$). Sin embargo el SUVRc DWM no presentó correlación con ninguno de los test del protocolo. No se observaron correlaciones con las escalas de fatiga ni depresión en las variables de SUVRc NAWM y SUVRc DWM.

Finalmente, tampoco se observaron diferencias significativas al comparar los pacientes con deterioro cognitivo en la primera evaluación respecto a los cognitivamente sanos. En la tabla 4.8 se observan los resultados obtenidos para ambos grupos.

Tabla 4.8: Datos comparativos de los resultados de la PET (captación en NAWM, DWM, porcentaje de variación) entre los grupos con deterioro cognitivo y los casos cognitivamente sanos. U: *Mann-Whitney U*. (*) p -valor $<0,05$.

	Casos con deterioro cognitivo (n=11)	Casos cognitivamente sanos (n=9)	U (<i>p</i> -valor)
SUVRc en NAWM	1,63 \pm 0,14	1,65 \pm 0,13	47,00 (0,849)
SUVRc en DWM	1,32 \pm 0,15	1,34 \pm 0,15	47,00 (0,849)
Porcentaje de variación	-18,79 \pm 6,34	-18,22 \pm 10,55	48,00 (0,909)

4.2.4. Relación de los resultados de la PET amiloide con la RM cerebral

En este punto se describe la relación entre las variables de la PET y la RM cerebral basal.

El SUVRc del NAWM presentó correlación moderada con el volumen total de lesiones de WM ($r=-0,40$; $p=0,015$; p ajustada= $0,037$), y el volumen de agujeros negros ($r=-0,48$; $p=0,004$; p ajustada= $0,020$), y correlación baja con el volumen del tálamo ($r=0,36$; $p=0,025$; p ajustada= $0,031$) y el volumen de GM ($r=0,37$; $p=0,023$; p ajustada= $0,038$).

Asimismo, el SUVRc DWM presentó correlación moderada con el TIV ($r=0,45$; $p=0,007$; p ajustada= $0,016$), el volumen de lesión de WM ($r=-0,40$; $p=0,015$; p ajustada= $0,026$) y el volumen de agujeros negros ($r=-0,51$; $p=0,002$; p ajustada= $0,007$), y correlación baja con el volumen de GM ($r=0,36$; $p=0,025$; p ajustada= $0,034$).

No se observó correlación del SUVRc NAWM y SUVRc DWM con el volumen de sustancia blanca ($r=0,15$; $p=0,216$; p ajustada= $0,216$ para NAWM, $r=0,30$; $p=0,054$ p ajustada= $0,063$ para DWM).

4.3. Estudio longitudinal clínico, cognitivo y de neuroimagen estructural

4.3.1. Evaluación longitudinal clínica

La media en meses del tiempo entre la evaluación clínica y neuropsicológica basal y de seguimiento fue de 18.00 ± 3.31 meses. Uno de los casos incluidos en el presente estudio se negó a realizar la reevaluación cognitiva.

La mediana obtenida en la escala EDSS durante la evaluación de seguimiento fue de 4,50 (IQR 3,00-5,75). De acuerdo a los criterios establecidos 15 (51,72 %) de los casos presentaron un cambio significativo de la puntuación de la EDSS entre la evaluación basal y la de seguimiento (*figura 4.11*).

Se clasificaron a los pacientes en dos grupos, con actividad y sin actividad de la enfermedad según los criterios establecidos en la metodología (NEDA-4). Se observó que 6 (20,69 %) de los casos presentaron una forma no activa de la enfermedad y 23 (79,31 %) una forma activa de EM (*figura 4.11*).

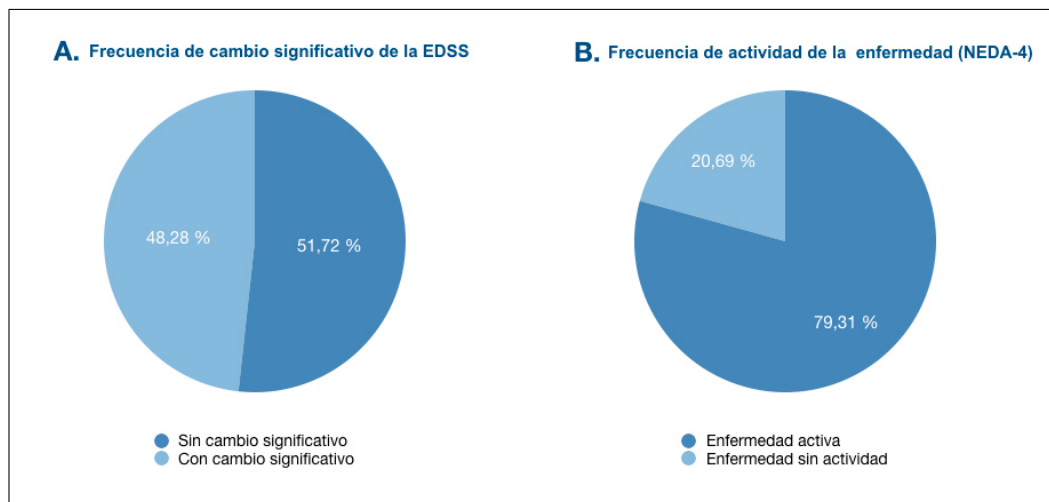


Figura 4.11: A. Casos con cambio significativo en la puntuación de la EDSS entre la evaluación basal y la de seguimiento. **B.** Pacientes con y sin evidencia de actividad de la enfermedad según los criterios NEDA-4.

Durante la evaluación de seguimiento 8 (27,59 %) de los casos presentaron cambio del tratamiento modificador de la enfermedad, 6 (20,69 %) por evidencia de actividad de la EM y 2 suspendieron tratamiento por decisión propia (figura 4.12).

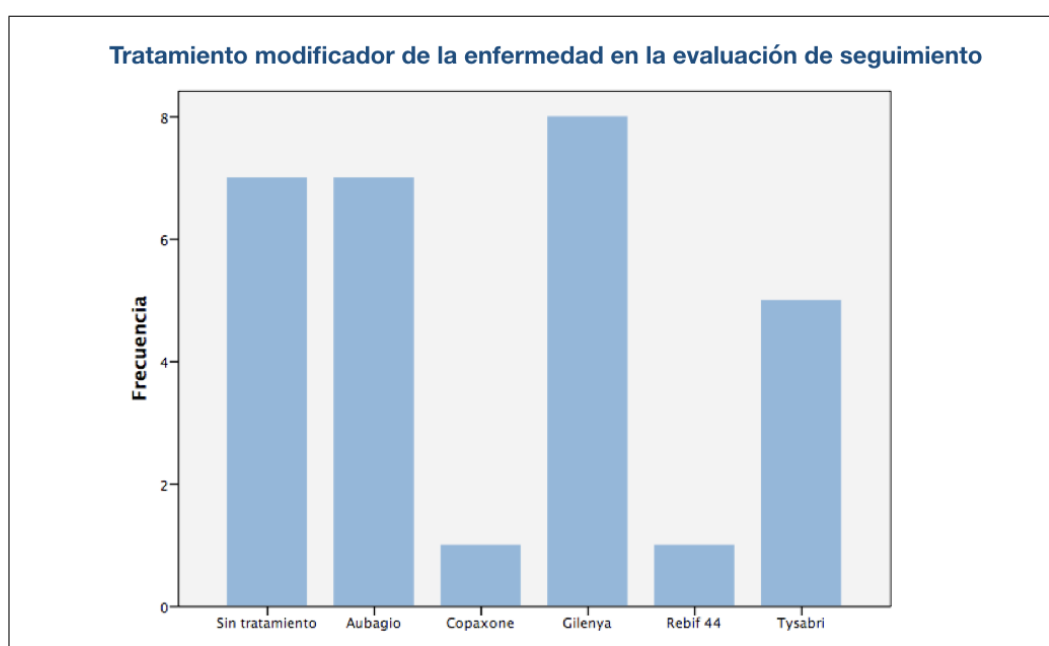


Figura 4.12: Tratamientos modificadores de la enfermedad, evaluación de seguimiento.

4.3.2. Evaluación longitudinal cognitiva

En la evaluación neuropsicológica de seguimiento se evidenció que 12 (41,38 %) pacientes presentaron empeoramiento cognitivo respecto a la evaluación basal (*figura 4.13*).

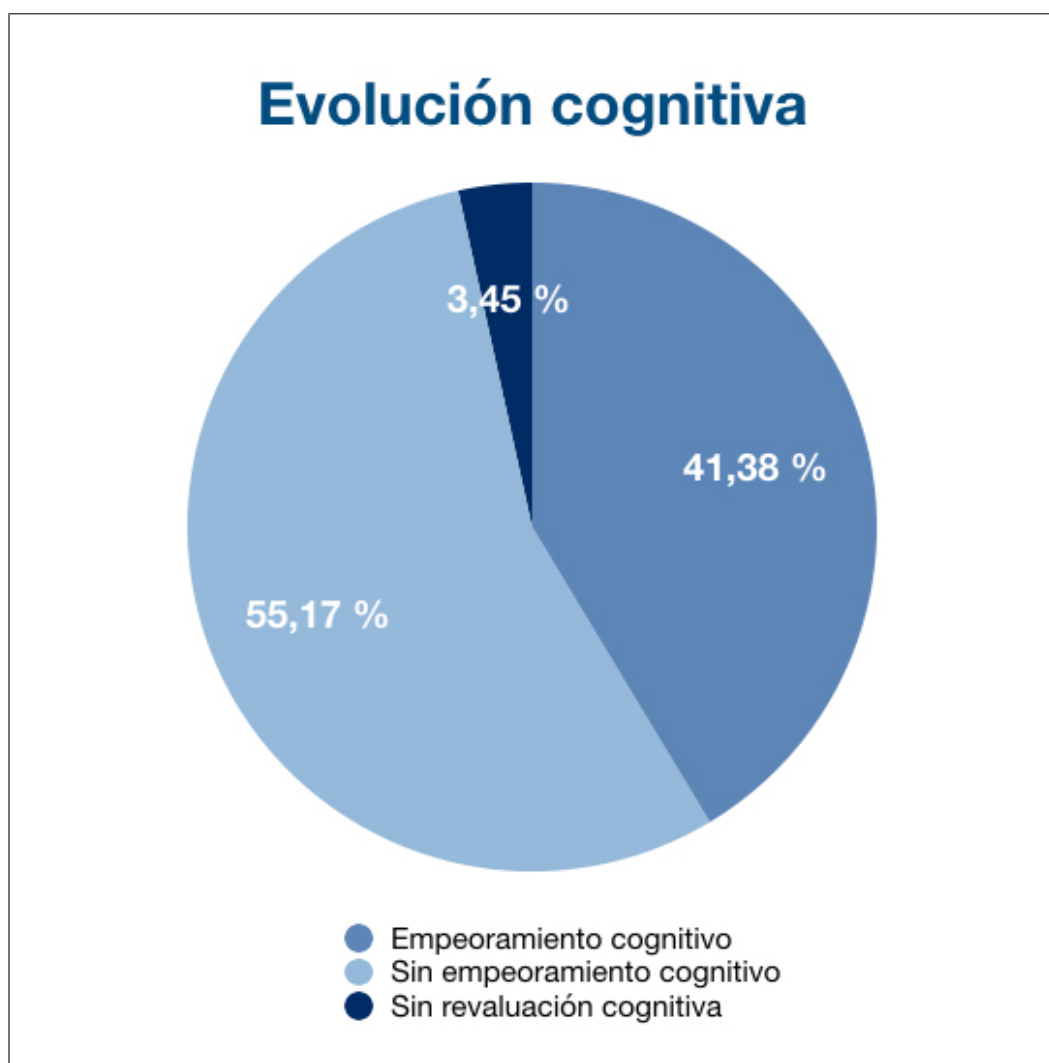


Figura 4.13: Gráfico de frecuencia de pacientes con empeoramiento cognitivo en la evaluación de seguimiento.

No se observaron diferencias significativas entre los grupos con o sin empeoramiento cognitivo y las formas clínicas de la enfermedad (EMRR: con empeoramiento cognitivo 8 (44,44 %), sin empeoramiento 10 (55,55 %); formas progresivas: con empeoramiento cognitivo 4 (36,36 %) sin empeoramiento cognitivo 6 (54, 54 %); $p=0,424$)

En la tabla siguiente se evidencian el número de test con percentil debajo de 6 en la evaluación de seguimiento y que se encontraban en rangos de normalidad en la evaluación basal (*tabla 4.9*).

Tabla 4.9: Frecuencia de casos con nuevos test por debajo del percentil 6 ajustados por edad y nivel de educación en la evaluación de seguimiento respecto a la basal.

Número de nuevos tests alterados	Número de casos
0	16 (55,17 %)
1	2 (6,90 %)
2	8 (27,59 %)
3	1 (3,45 %)
4	1 (3,45 %)

Del total de pacientes incluidos en el estudio 9 (31,03 %) presentaron nuevos dominios cognitivos alterados en la evaluación de seguimiento, 1 (3,45 %) caso VE, 2 (6,90 %) lenguaje, 2 (6,90 %) IPS, 3 (10,34 %) atención y función ejecutiva y 1 (3,45 %) presentó alteración de 2 nuevos dominios cognitivos en el seguimiento, memoria e IPS.

4.3.3. Evaluación longitudinal de fatiga y depresión

En el seguimiento no se observaron cambios en la frecuencia de fatiga según la escala FSS, 20 (68,96 %) de los casos cumplían criterios de fatiga, 8 (27,59 %) se encontraban por debajo del umbral establecido para el diagnóstico de fatiga y 1 (3,45 %) no se realizó la revaluación según se comentó previamente.

Respecto al IDB observamos que 12 (41,38 %) de los pacientes no presentaban depresión, mientras que 9 (31,03 %) evidenciaban un cuadro compatible con un ligero trastorno del estado de ánimo o *"borderline"*, 7 (24,14 %) evidenciaban síntomas de depresión y 1 (3,45 %) no se realizó la revaluación (*figura 4.14*).

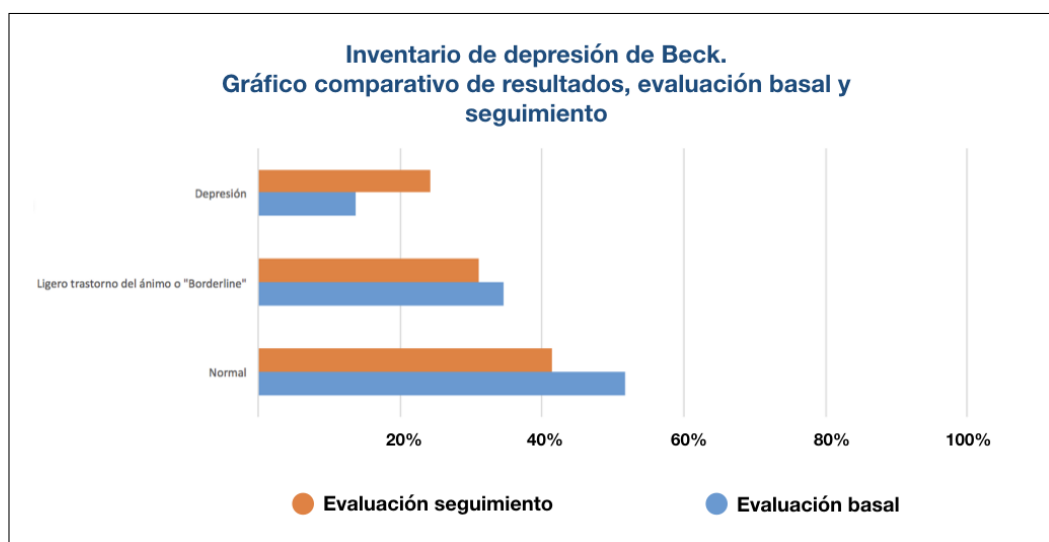


Figura 4.14: Frecuencia de casos con depresión según el Inventario de Depresión de Beck en la evaluación de seguimiento.

4.3.4. Evaluación longitudinal de RM cerebral

Se observaron diferencias significativas en el volumen de lesiones de sustancia blanca y agujeros negros entre la evaluación basal y la de seguimiento (p-valor=0,002 y p-valor= 0,001 respectivamente), como se muestra en la tabla 4.10.

Tabla 4.10: Estudio longitudinal por RM cerebral. t: Prueba de T para muestras pareadas. *p<0,05.

	Evaluación basal	Seguimiento	t (p-valor)
nWM (ml)	731,06±67,51	710,52±61,02	1,40 (0,172)
nGM (ml)	741,95±68,48	727,35±87,06	1,61 (0,119)
Volumen talámico bilateral (ml)	14,78±2,24	14,72±2,11	0,69 (0,495)
Volumen de lesiones de sustancia blanca (ml)*	11,65±10,31	18,48±14,46	-3,52 (0,002)
Volumen de agujeros negros (ml)*	3,06±3,23	3,93±3,95	-4,47 (0,001)

Se calculó el AR-BVL (*Annual Rate Brain Volume Loss*: $(PCVC/100+1)^{(365.25/days)-1} \cdot 100$) de la cohorte de estudio, con una mediana de -0,40 (IQR -0,90 - 0,11). 14 (48,28 %) de los casos presentaron un índice anual de pérdida de volumen cerebral significativo (mayor a 0,40 %).

4.4. Relación de la PET amiloide con los resultados del estudio longitudinal

4.4.1. PET amiloide y RM cerebral basal respecto al empeoramiento clínico

Al analizar los pacientes que presentaron un cambio significativo de la EDSS entre la evaluación basal y la de seguimiento no se observaron diferencias significativas en el SUVRc NAWM, en el SUVRc DWM ni en el porcentaje de variación ($U=105$, $p=1,00$; $U=102$ $p=0,896$; $U=87$ $p=0,432$ respectivamente), así como tampoco con los volúmenes cerebrales medidos en la RM basal (*tabla 4.11*).

Tabla 4.11: Diferencias entre los pacientes con cambio significativo de la EDSS entre la evaluación basal y la evaluación de seguimiento.

	Grupo con aumento de EDSS (n=15)	Grupo EDSS estable (n=14)	U (<i>p-valor</i>)
nWM basal (ml)	716,91±51,96	746,22±80,19	92,00 (0,570)
nGM basal (ml)	734,60±61,30	749,83±76,97	100,00 (0,827)
Volumen de tálamos basal (ml)	14,67±2,17	14,94±2,31	100,00 (0,827)
Volumen le-sional basal (ml)	13,22±9,75	9,97±10,98	76,00 (0,206)
Volumen de agujeros ne-gros basal (ml)	3,24±3,64	3,41±3,43	101,50 (0,879)
SUVRc en NAWM	1,61±0,18	1,61±0,11	105,00 (1,000)
SUVRc en DWM	1,29±0,12	1,33±0,16	102,00 (0,896)
Porcentaje de variación	-19,30±7,45	-17,27±8,46	87,00 (0,432)

No se observaron diferencias significativas entre los volúmenes cerebrales basales, el NAWM y el DWM respecto a la clasificación de los casos con actividad o sin actividad de la enfermedad (NEDA-4) (*tabla 4.12*).

Tabla 4.12: Diferencias entre los pacientes con actividad y sin actividad de la enfermedad (NEDA-4).

	Grupo con actividad de la enfermedad (n=15)	Grupo sin actividad de la enfermedad (n=14)	U (<i>p-valor</i>)
nWM basal (ml)	727,31±58,44	745,45±100,90	68,00 (0,957)
nGM basal (ml)	744,55±69,84	732,00±68,17	63,00 (0,747)
Volumen de tálamos basal (ml)	14,91±2,30	14,35±1,89	59,00 (0,590)
Volumen lesional basal (ml)	11,78±10,41	11,14±10,82	66,00 (0,872)
Volumen de agujeros negros basal (ml)	3,45±3,50	2,84±3,69	56,50 (0,501)
SUVRc en NAWM	1,61±0,15	1,61±0,15	58,00 (0,554)
SUVRc en DWM	1,30±0,14	1,34±0,16	61,00 (0,667)

4.4.2. PET amiloide y RM cerebral respecto al empeoramiento cognitivo

Se observó un valor de SUVRc NAWM menor en los pacientes con empeoramiento cognitivo (más dominios cognitivos afectados, según los criterios establecidos previamente, o mayor número de test cognitivos con percentil \leq a 5 en la evaluación de seguimiento) respecto a aquellos casos que se mantuvieron estables ($1,52 \pm 0,14$ en el grupo con empeoramiento cognitivo vs $1,67 \pm 0,13$ en el grupo cognitivamente estable, $U=42$, $p=0,011$). También se observó esta misma diferencia entre ambos grupos respecto al valor del SUVRc DWM ($1,23 \pm 0,11$ en los casos con empeoramiento cognitivo vs $1,37 \pm 0,13$ en los casos cognitivamente estables, $U=44$, $p=0,015$).

Los pacientes que empeoraron desde el punto de vista cognitivo también presentaron un mayor volumen lesional ($15,25 \pm 8,72$ vs $9,17 \pm 11,17$; $U=49$, $p=0,029$) y un menor volumen talámico ($13,84 \pm 2,25$ vs $15,61 \pm 1,95$; $U=55$, $p=0,059$). Sin embargo, no se observaron diferencias en el volumen de GM ($730,29 \pm 87,84$ vs $752,66 \pm 52,90$; $U=68$, $p=0,205$), WM ($715,90 \pm 72,66$ vs $744,95 \pm 64,33$; $U=66$, $p=0,174$) y de agujeros negros ($3,56 \pm 2,60$ vs $3,26 \pm 4,16$; $U=68$, $p=0,205$) (*tabla 4.13*).

Tabla 4.13: Diferencias entre los pacientes con empeoramiento cognitivo y los casos cognitivamente estables. U: *Mann-Whitney U*. (*) p-valor <0,05.

	Grupo con empeoramiento cognitivo (n=12)	Grupo cog- nitivamente estable (n=16)	U (<i>p-valor</i>)
Volumen de sustancia blanca basal (ml)	715,90±72,66	744,95±64,33	66 (0,174)
Volumen de sustancia gris basal (ml)	730,29±87,84	752,66±52,90	68 (0,205)
Volumen de tálamos basal (ml)	13,84±2,25	15,61±1,95	55 (0,059)
Volumen lesio- nal basal (ml)*	15,25±8,72	9,17±11,17	49 (0,029)
Agujeros ne- gros basal (ml)	3,56±2,60	3,26±4,16	68 (0,205)
SUVRc en NAWM*	1,52±0,14	1,67±0,13	42 (0,011)
SUVRc en DWM*	1,23±0,11	1,37±0,13	44 (0,015)

Asimismo, se observó una correlación moderada negativa entre el número de test cuyo percentil cayó por debajo de 6 con el SUVRc NAWM ($r=-0,50$, $p=0,003$) y el SUVRc DWM ($r=-0,43$, $p=0,023$), y una correlación moderada positiva con el volumen de lesiones de WM ($r=0,40$, $p=0,017$).

Posteriormente, se analizó por separado el grupo de pacientes con la forma clínica EMRR y se observó que aquellos con empeoramiento cognitivo de este grupo presentaron un menor valor de SUVRc NAWM ($1,47\pm0,14$ vs $1,65\pm0,11$; $U=13$; $p=0,016$) y un menor volumen talámico ($13,30\pm2,43$ vs $15,71\pm2,30$; $U=19$; $p=0,062$). Sin embargo, no se evidenciaron diferencias en el volumen de GM, WM y agujeros negros (*tabla 4.14*).

Tabla 4.14: Grupo recurrente remitente de EM. Diferencias entre los pacientes con empeoramiento cognitivo y los casos cognitivamente estables. U: *Mann-Whitney U*. (*) p-valor <0,05.

	Grupo con empeoramiento cognitivo (n=8)	Grupo cognitivamente estable (n=10)	U (p-valor)
EDSS basal	3,56±0,72	2,35±0,72	19 (0,058)
nWM basal (ml)	730,43±84,00	745,46±64,80	33 (0,534)
nGM basal (ml)	722,16±106,24	762,41±43,88	24 (0,155)
Volumen de tálamos basal (ml)	13,30±2,43	15,71±2,30	19 (0,062)
Volumen lesional basal (ml)	11,72±7,39	9,29±11,41	25 (0,183)
Volumen de agujeros negros basal (ml)	2,78±1,59	3,01±3,74	30 (0,374)
SUVRc en NAWM*	1,47±0,14	1,65±0,11	13 (0,016)
SUVRc en DWM	1,24±0,14	1,37±0,12	21 (0,091)

4.4.3. Correlación PET amiloide con los resultados del estudio longitudinal por RM

Se calculó la correlación entre SUVRc NAWM y DWM con las diferencias de volúmenes entre las dos evaluaciones de RM cerebral (evaluación basal y de seguimiento).

SUVRc NAWM presentó una correlación moderada inversa con el cambio de volumen de lesión de WM ($r=-0,44$, $p=0.020$). No se observó en cambio correlación con las diferencias de otros volúmenes cerebrales por RM en la evaluación longitudinal. Tampoco se evidenciaron correlaciones entre DWM y los cambios de volúmenes en RM durante la evaluación de seguimiento de los pacientes incluidos en el estudio.

4.4.4. Modelo de predicción del empeoramiento cognitivo en pacientes con EM

Con el objetivo de generar un modelo de predicción para el empeoramiento cognitivo de los pacientes con EM se utilizó el método de regresión logística utilizando como variables independientes el SUVRc NAWM y la carga lesional de WM en la RM cerebral basal (ambas significativas en el análisis univariante) observándose que el único determinante independiente de empeoramiento cognitivo en los pacientes con EM fue el SURVc NAWM ($R^2 = 0,31$; p valor= $0,026$). La tasa de clasificación correcta para este modelo fue del 64,30 %.

A su vez, se estimó la curva COR con el objetivo de verificar la capacidad discriminatoria del NAWM para diferenciar entre aquellos pacientes con tendencia al empeoramiento cognitivo y aquellos con tendencia a mantenerse estables. El área bajo la curva fue de 0,79 (intervalo de confianza al 95 % de 0,633-0,956), con un error estándar de 0,082 y una significación de $p=0,008$ (figura 4.15).

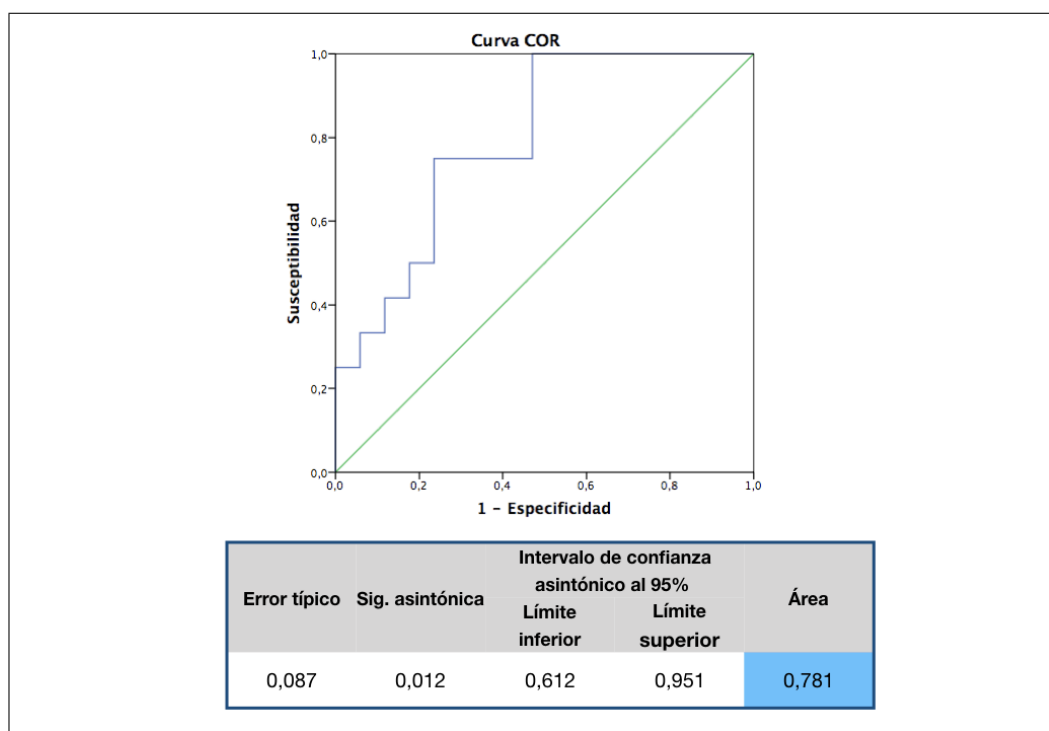


Figura 4.15: Curva COR. Discriminación entre pacientes con empeoramiento cognitivo y pacientes cognitivamente estables. *Sig.:* significación.

Capítulo 5

Discusión

La EM constituye una de las principales enfermedades neurológicas en adultos jóvenes en países occidentales y representa una de las principales causas de discapacidad en este grupo. La discapacidad física y/o cognitiva producidas por la EM impiden, en muchos pacientes, el correcto desempeño de las actividades diarias con su consecuente impacto en la calidad de vida y en el desarrollo socioeconómico personal y colectivo.

En los últimos años se ha producido un gran avance en el conocimiento de la fisiopatología y de distintos tratamientos enfocados al control de la enfermedad y a la reducción de la discapacidad. Sin embargo, la disponibilidad cada vez mayor de fármacos para el tratamiento de la EM pone en evidencia la necesidad urgente de marcadores biológicos precoces y precisos de la evolución clínica y cognitiva de los pacientes con EM que permitan un abordaje personalizado y temprano de esta

enfermedad.

En el presente trabajo se ha llevado a cabo un estudio longitudinal de la evolución clínica, cognitiva y radiológica de una cohorte de pacientes con EM, teniendo en cuenta el estado de desmielinización/remielinización evaluado mediante PET amiloide.

En nuestro conocimiento es el estudio con la mayor cohorte de pacientes con EM en utilizar esta técnica. Asimismo, es el primer trabajo en analizar la evolución clínica, cognitiva y de RM con los resultados obtenidos de la PET amiloide.

A continuación, se discutirán los principales resultados obtenidos de acuerdo a la hipótesis y objetivos planteados inicialmente.

5.1. Características demográficas, clínicas y cognitivas basales de los pacientes en estudio

5.1.1. Evaluación clínica

La edad media de los 29 pacientes al momento de inclusión en el estudio fue de $44,41 \pm 8,75$ años, con una edad media de inicio de la enfermedad de $29,93 \pm 8,80$ años y un predominio de mujeres respecto a varones. El 62,07 % de los casos presentaron una forma clínica de

la enfermedad recurrente remitente, 20,69 % secundaria progresiva y 17,24 % primaria progresiva. Las características demográficas y clínicas de nuestra cohorte son concordantes con series de estudios previos en EM reportados en la literatura, por lo tanto constituye una muestra poblacional representativa de esta enfermedad (*Filippi, Bar-Or, et al., 2018; F. D. Lublin et al., 2014*).

La EM es una enfermedad clínicamente muy heterogénea, tanto en forma de presentación como en su evolución clínica. La escala EDSS fue la más utilizada para medir discapacidad en pacientes con EM, así como la respuesta a distintos tratamientos (*Mazdeh, Hosseini, Taheri, & Ghafouri-Fard, 2018; University of California et al., 2016*).

Los casos estudiados en el presente trabajo tenían un puntaje medio de EDSS al momento de inclusión de $3,56 \pm 1,76$ (4; IQR 2-5), y el tiempo de evolución de la enfermedad era de $14,48 \pm 6,05$ años, por lo que podríamos decir que nuestra cohorte estaba integrada por pacientes con un nivel de agresividad de la enfermedad medio. Esto se encuentra fundamentado por los datos reportados en la bibliografía, según los cuales el tiempo medio estimado para alcanzar un score de la EDSS de 4 es aproximadamente 10 años, y 20 años para alcanzar un puntaje de 6 (*Confavreux, Vukusic, Moreau, & Adeleine, 2000; Uitdehaag, 2018*).

5.1.2. Evaluación neuropsicológica, fatiga y depresión

En el presente estudio se observó una frecuencia de alteraciones cognitivas en al menos un dominio cognitivo del 69 % de los casos (31 % con 1 dominio cognitivo alterado y 38 % con déficit cognitivo, esto es, 2 o más dominios alterados), estos datos están en concordancia con lo reportado en estudios previos (*Benedict & Zivadinov, 2011; J. A. Matías-Guiu et al., 2018; J. A. Matías-Guiu, Cortés-Martínez, et al., 2017*).

En un estudio reciente de nuestro grupo -en el que estudiamos una cohorte de 311 pacientes con EM- observamos que el 77,80 % de los casos presentaban al menos un dominio cognitivo alterado y 41,50 % de la cohorte presentaba 2 o más dominios afectados. Asimismo, se observó que puntajes de EDSS más altos y un nivel de educación más bajo se asociaron a los casos con déficit cognitivo, sin observar relación con la edad y el tiempo de evolución de la enfermedad (*J. A. Matías-Guiu, Cortes-Martinez, et al., 2017*). En concordancia con estos resultados, en el presente estudio observamos que las alteraciones cognitivas de nuestra cohorte se presentaron asociadas a mayor discapacidad (puntaje de EDSS mayores). No obstante, no encontramos esta asociación con los años de escolaridad, quizás debido a que el nivel educativo de nuestra población de estudio (con una n significativamente menor al trabajo comentado previamente) era más homogéneo, con un nivel medio-alto de escolaridad en todos los casos (media de $16,10 \pm 3,13$ años). Tampoco hemos observado diferencias entre grupos con y sin alteración cognitiva

respecto al sexo, la edad, la edad de inicio de la EM y el tiempo de evolución de la enfermedad.

Al analizar por dominios cognitivos alterados hemos evidenciado que 13 (44,83 %) de los casos presentaban alteración de la IPS, 12 (41,37 %) de memoria, 11 (37,93 %) de atención y función ejecutiva, 8 (27,58 %) VE y 5 (17,24 %) de lenguaje. Debido a la gran heterogeneidad metodológica utilizada para la evaluación de los diferentes dominios cognitivos en EM, la información reportada en la bibliografía respecto a la frecuencia y características en los distintos grupos y poblaciones estudiadas es muy variada. En la tabla siguiente se pueden observar la correlación de nuestros resultados con los datos reportados en la bibliografía (*tabla 5.1*) (*Adler & Lembach, 2015; Di Filippo et al., 2018; Guimaraes & Sa, 2012; Lopes Costa et al., 2016; J. A. Matías-Guiu, Cortés-Martínez, et al., 2017; Nocentini et al., 2006; Renauld, Mohamed-Said, & Macoir, 2016; Van Schependom et al., 2015.*)

Tabla 5.1: Alteración cognitiva en la EM, frecuencia por dominios cognitivos.

	Frecuencia en el estudio actual	Bibliografía
Velocidad de procesamiento	44,83 %	20-50 %
Memoria	41,37 %	33-65 %
Atención y función ejecutiva	37,93 %	15-25 %
Visuoespacial	27,58 %	>25 %
Lenguaje	17,24 %	>20 %

Nuestros resultados confirman lo que trabajos recientes en el mismo campo han destacado, esto es, la gran variabilidad de los déficit cognitivos presentes en los pacientes con EM, una característica consistente con la heterogeneidad de las manifestaciones clínicas de esta enfermedad. Esto pone de manifiesto la necesidad de protocolos consensuados, validados y específicos para EM que comprendan todos los dominios cognitivos.

Respecto al análisis de las alteraciones cognitivas en la cohorte y su asociación con la forma clínica de presentación de la enfermedad, hemos observado que estas alteraciones se presentaron con mayor frecuencia en los casos con formas progresivas de EM, lo cual está en concordancia con los hallazgos de estudios recientes (*Harrison et al., 2015; Nielsen et al., 2013; Planche, Gibelin, Cregut, Pereira, & Clavelou, 2016; Roosendaal et al., 2009*). Incluso observamos que las formas progresivas presentan una mayor frecuencia de dominios cognitivos alterados, 3 dominios o más, respecto a las formas recurrente remitente. Este dato resulta de particular interés, ya que podría obedecer a cambios neuroanatómicos específicos de las formas progresivas de la enfermedad, tanto a nivel cortical como subcortical (*J. A. Matias-Guiu et al., 2018*).

Hasta el momento el estudio de los mecanismos subyacentes a las alteraciones cognitivas en la EM ha presentado escenarios muy heterogéneos y complejos. Cada vez existe un mayor consenso en definir que este déficit está generado por un delicado equilibrio entre el daño de sustancia blanca y sustancia gris, involucrándose en este contexto el com-

promiso de numerosas áreas, estructuras y redes neuronales. En este proceso están involucrados mecanismos inflamatorios y degenerativos que, según el momento de evolución de la enfermedad, se ven desequilibrados hacia el predominio de uno u otro de esos mecanismos, favoreciendo cambios anatomopatológicos que promueven distintos cuadros evolutivos de la misma enfermedad.

Otros datos a mencionar son los resultados obtenidos de la valoración de depresión y fatiga mediante el IDB y la FSS. El 51,72 % de los pacientes no presentaba ninguna alteración del estado de ánimo y sólo un 13,79 % presentaban síntomas de depresión. Por otro lado, 21 (72,41 %) casos presentaban fatiga según los valores obtenidos. Nuestros resultados muestran una correlación moderada entre las escalas de fatiga, depresión y el resto de los test neuropsicológicos incluidos en el protocolo, sin evidenciar un impacto significativo en ninguno de ellos. Esto es consistente con el estudio clínico realizado previamente utilizando la misma batería cognitiva, en el que realizándose un análisis de componentes principales pudo observarse cómo depresión y fatiga se englobaban en un mismo cluster, pero independiente de los otros clusters cognitivos (*J. A. Matías-Guiu, Cortés-Martínez, et al., 2017*). Esto refuerza el hecho de que, al menos con la batería neuropsicológica utilizada, la influencia de fatiga y depresión en el rendimiento cognitivo es poco relevante.

La asociación de fatiga, depresión y alteraciones cognitivas en la EM no está clara, así como tampoco lo están los mecanismos subyacentes.

Se ha reportado la influencia de procesos inflamatorios, alteraciones de sustancia blanca que producen problemas de conducción, lesiones focales, lesiones y atrofia cortical, y distintos procesos fisiológicos asociados a la depresión, entre otros (*Hanken, Eling, & Hildebrandt, 2015; Hildebrandt & Eling, 2014; Simpson et al., 2016; van Kessel & Moss-Morris, 2006*). Otra de las dificultades al evaluar estas alteraciones en pacientes con EM es la idoneidad de las escalas utilizadas ya que no existe consenso en la literatura de las herramientas más apropiadas para su valoración (*Andreasen et al., 2018; Skokou, Soubasi, & Gourzis, 2012*).

5.2. Resultados de los estudios de neuroimágenes basales

5.2.1. Resonancia magnética cerebral

Las alteraciones en RM son fundamentales para el diagnóstico y seguimiento de los pacientes con EM. Cambios en los volúmenes globales y de diferentes estructuras cerebrales han sido reportados desde etapas tempranas y planteados como marcadores de discapacidad y progresión en esta enfermedad (*Hemond & Bakshi, 2018; Hulst et al., 2013*).

Hemos analizado los volúmenes de sustancia gris, sustancia blanca, carga lesional, tálamos y agujeros negros en las RM cerebrales de los 29 casos al momento de inclusión en el estudio.

Al analizar el grado de discapacidad de la cohorte, medido con la EDSS y su relación con los volúmenes cerebrales, observamos una correlación positiva moderada de la EDSS con la carga lesional y una correlación moderada negativa con el volumen de WM y de los tálamos. Esto nos permite señalar que los pacientes con mayor discapacidad al momento de inclusión en el estudio presentaban mayor carga lesional, menor volumen de WM y menor volumen de los tálamos. Los resultados obtenidos se encuentran en concordancia con otros trabajos recientes publicados que refuerzan el papel relevante de las alteraciones corticales y subcorticales en la discapacidad de los pacientes con EM (*Keegan et al., 2018; Megna et al., 2018; Nakamura et al., 2018*).

Sin embargo, el análisis transversal de los volúmenes cerebrales y el estado cognitivo de los pacientes en la evaluación basal no evidenció diferencias significativas, así como tampoco se han encontrado correlaciones entre estos volúmenes y los test neuropsicológicos incluidos en el protocolo, excepto una correlación moderada de la carga lesional y el IDB.

Estudios previos han evidenciado la relación de los volúmenes de distintas estructuras cerebrales con el estado cognitivo de los pacientes (*Biseco et al., 2018; Damjanovic et al., 2017; J. A. Matías-Guiu et al., 2018a, 2018b; Rojas et al., 2018*), sin embargo, algunos trabajos han planteado que la reserva cognitiva podría ejercer un papel protector frente a la influencia de estos daños estructurales sobre la función cognitiva, lo que podría explicar parcialmente la heterogeneidad de resul-

tados en distintas cohortes estudiadas. En esta línea, los pacientes incluidos en nuestro estudio presentan un nivel de educación medio-alto, con una media de $16,10 \pm 3,13$ años de escolaridad, que podría contribuir en cierta medida a no encontrar diferencias significativas respecto a los volúmenes cerebrales entre grupos según su estado cognitivo (*Santangelo et al., 2018; Sumowski, Chiaravalloti, Wylie, & Deluca, 2009*). Por otro lado, también debemos tener en cuenta que el tamaño muestral de los grupos puede reducir la sensibilidad de esta técnica para evidenciar diferencias significativas.

Asimismo, hemos estudiado las diferencias entre los casos con y sin fatiga según la escala FSS y hemos podido observar diferencias significativas en TIV, el volumen de WM, carga lesional y tálamos; apoyando un posible origen multifactorial de la fatiga relacionado con la inflamación, los mecanismos inmunes, la desmielinización y la degeneración axonal, consecuencia de lesiones corticales, subcorticales y atrofia tanto global como de estructuras profundas, como ya han reportado estudios previos (*Andreasen et al., 2018; Pardini et al., 2015; Riccitelli et al., 2011*).

5.2.2. PET amiloide con ^{18}F -florbetabén

Como se ha observado en estudios anteriores, la captación del trazador amiloide en DWM ha sido menor a la observada en la NAWM y en los controles (*figura 5.1*).

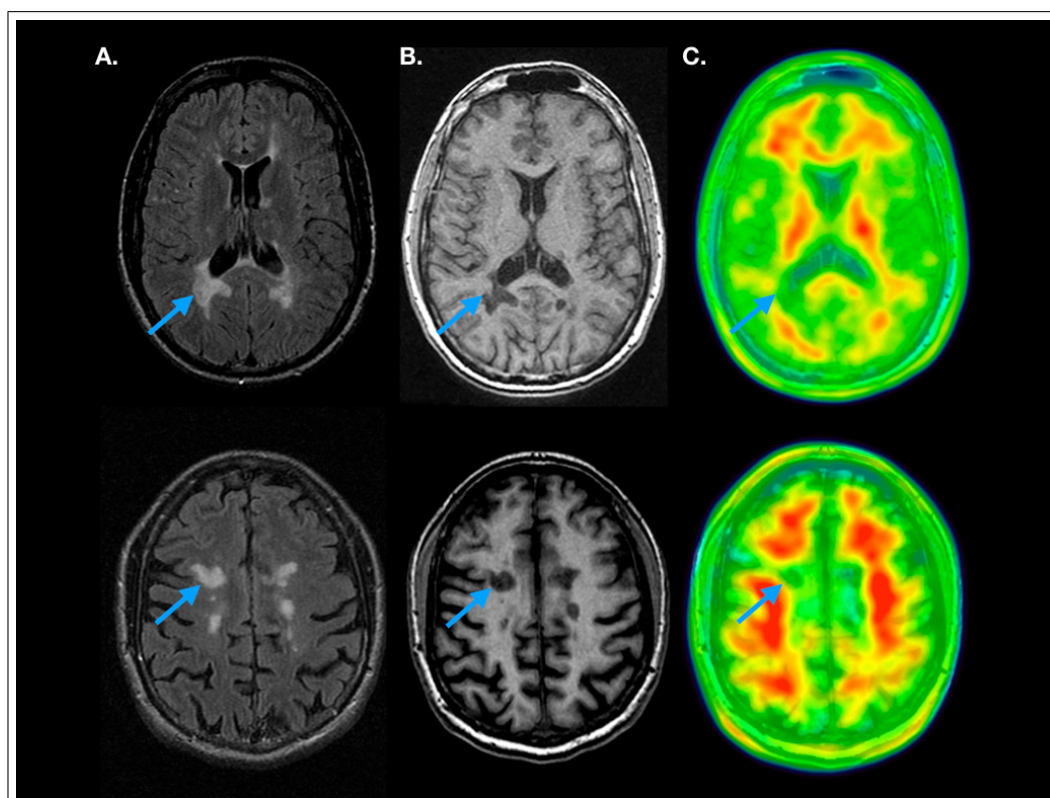


Figura 5.1: Imágenes co-registradas PET con ^{18}F -Florbetabén/RM. **A.** Recuperación de la inversión a los fluidos atenuada en T2 (FLAIR). **B.** Secuencia ponderada en T1. **C.** Imágenes PET con ^{18}F -Florbetabén. Las flechas muestran lesiones y áreas de baja captación del radiotrazador amiloide detectadas con PET.

Estos resultados confirman los hallazgos previos y evidencian la sensibilidad de estos trazadores a la desmielinización (*Bodini et al., 2016; Goodheart et al., 2015; J. A. Matías-Guiu, Cabrera-Martín, et al., 2017; J. A. Matías-Guiu et al., 2015; J. A. Matías-Guiu, Cabrera-Martín, et al., 2016; J. A. Matías-Guiu, Oreja-Guevara, et al., 2016; Pietroboni et al., 2018; Stankoff et al., 2011; Zeydan et al., 2018*). En la tabla 5.2 se observa un resumen de los trabajos con PET amiloide en pacientes con esclerosis múltiple reportados en la literatura.

Tabla 5.2: Resumen de estudios previos reportados en la bibliografía con PET amiloide en Esclerosis Múltiple

Referencia	Trazador	Población de estudio	Resultados principales
<i>Stankoff, et al., 2011</i>	[¹¹ C]PiB	Monos y 2 casos de EM	La captación de PiB se ve reducida en las lesiones de sustancia blanca en los dos pacientes con EM
<i>Matías-Guiu, et al., 2015</i>	¹⁸ F-florbetabén	12 EM, 3 CS	La captación de ¹⁸ F-florbetabén en DWM fue menor que en NAWM. La captación del trazador PET correlacionó con la EDSS

Sigue en la página siguiente

Referencia	Trazador	Población de estudio	Resultados principales
<i>Bodini, et al., 2016</i>	[¹¹ C] PiB	20 EM, 8 CS	Estudio longitudinal con seguimiento de menos de 4 meses, con 2 PiB PET en cada caso. Evaluación de la desmielinización /remielinización a través del tiempo y su relación con la discapacidad.
<i>Zeydan, et al., 2018</i>	[¹¹ C] PiB	2 EM, 1 control sano por cada caso de EM (1:5)	La captación de [¹¹ C] PiB en la corteza en pacientes de EM evolucionados no fue diferente a la de controles, pero fue menor en áreas hiperintensas de la sustancia blanca de los casos
<i>Matías-Guiu, et al., 2017</i>	¹⁸ F-florbetabén	1 caso de EM pseudotumoral	Se observó una disminución de la captación del trazador en la lesión de sustancia blanca y en los bordes de la lesión

Sigue en la página siguiente

Referencia	Trazador	Población de estudio	Resultados principales
<i>Pietroboni, et al., 2018</i>	¹⁸ F-Florbetapir	12 EM	Disminución de la captación del trazador PET en DWM respecto a NAWM. Menor captación en NAWM en los pacientes clasificados como activos. Correlación entre el dosaje de A β en LCR y la captación en NAWM
<i>Estudio actual</i>	¹⁸ F-florbetabén	29 EM, 8 CS	La captación del trazador PET en NAWM correlacionó con la memoria de trabajo y las pruebas visuoespaciales. La captación del trazador amiloide se asoció con la empeora cognitiva de los casos de EM a los 18 meses de seguimiento. La captación en NAWM se asoció a cambios en el volumen de lesiones de sustancia blanca en el estudio longitudinal de los pacientes con EM.

Tras evidenciar la diferencia de captación del radiotrazador entre DWM, NAWM, pacientes y controles, hemos analizado la captación en

los grupos de pacientes clasificados según la forma clínica de la enfermedad. Como resultado, hemos observado que aquellos con forma EMRR presentaron una captación menor en NAWM que los casos con formas EMPP. Estos hallazgos podrían ser explicados e interpretados en el contexto de la actividad de la enfermedad y los procesos involucrados en su desarrollo, como se sugiere en un estudio reciente (*Pietroboni et al., 2018*). Esta posible explicación a la reducción de captación del radiotrazador amiloide en las formas EMRR podría estar asociado a un riesgo mayor de lesiones desmielinizantes, mayor número de brotes clínicos y mayor progresión de la discapacidad de los pacientes. Esta hipótesis, a su vez, se encuentra reforzada por el hallazgo de una correlación negativa entre la EDSS basal y el SUVRc NAWM controlado por la forma clínica de la enfermedad ($r=-0,37$; $p=0,050$). Sin embargo, otra posible explicación podría fundamentarse en los mecanismos fisiopatológicos subyacentes, teniendo en cuenta que en los casos de EMPP el mecanismo predominante es el daño axonal y la activación de la microglía más que la desmielinización propiamente dicha (*Abdelhak et al., 2017; Moll et al., 2011*).

En la valoración basal de los pacientes incluidos en el estudio hemos observado una correlación positiva entre el SUVRc en NAWM y los resultados obtenidos de la FCRO. Estos hallazgos son consistentes con los obtenidos por Zeydan y colaboradores (*Zeydan et al., 2018*) quienes reportaron la correlación entre la captación de PiB en NAWM de 12 pacientes con EM y los puntajes de test que evaluaban funciones VE. Esta relación observada entre la captación del radiotrazador en NAWM y la

FCRO podría ser explicada por el hecho de que este test engloba diferentes funciones cognitivas (función VE, atención y función ejecutiva) que dependen de estructuras subcorticales y redes neuronales relacionadas con regiones parietales, temporales, occipitales y frontales, haciendo de éste por tanto un test más susceptible al daño de sustancia blanca (*J. A. Matías-Guiu, Cabrera-Martín, Valles-Salgado, et al., 2017; J. A. Matías-Guiu et al., 2018a; J. A. Matías-Guiu, Cortés-Martínez, et al., 2017*). Por otro lado, bajo el fundamento de esta misma hipótesis, las alteraciones o déficit que involucran mecanismos y fisiopatologías más heterogéneas, como la fatiga y la depresión, no correlacionan con la captación del radiotrazador (*Hanken et al., 2015; Simpson et al., 2016*).

Hemos incluido un grupo control con individuos sanos pareados por edad con los casos de mayor edad de nuestra población, y por nivel de educación con los casos incluidos en el presente estudio. En el análisis basado en vóxels hemos observado una menor captación del radiotrazador en las regiones cerebrales donde se presentan con mayor frecuencia las lesiones de los pacientes con EM. No hemos evidenciado diferencias estadísticamente significativas en la captación del radiotrazador entre ambos grupos en ninguna otra región cerebral, incluido el cerebelo. Este último hallazgo merece ser destacado, ya que varios estudios previos con PET amiloide con trazadores fluorados realizados en pacientes con EM han utilizado como región de referencia el cerebelo (*Pietroboni et al., 2018; Zeydan et al., 2018*). Otro aspecto importante que apoya su utilización es que a pesar de que en otros estudios han sido demostradas alteraciones estructurales del cerebelo en pacientes con EM (en algu-

nas secuencias específicas de RM), se conoce también que el cerebelo es una estructura menos comprometida que otras también utilizadas como referencia en estudios con PET amiloide (como por ejemplo la protuberancia o la propia sustancia blanca) (*Wong et al., 2010*). Por lo tanto, la ausencia de diferencias en la captación del cerebelo -en casos con evolución prolongada de EM respecto a controles sanos- avala la utilización de esta región como referencia para este tipo de estudios; máxime cuando el grupo control fue comparado con el grupo de mayor edad (y por tanto, con más tiempo de evolución) de la serie.

5.3. Resultados de estudio longitudinal clínico, cognitivo y de resonancia magnética cerebral

A los pacientes incluidos en el estudio se les ha realizado una evaluación de seguimiento con una media de 18.00 ± 3.31 meses desde la valoración basal. El 51.72 % de los casos presentaron un aumento significativo de la discapacidad medido por la escala EDSS y el 79,31 % presentó una forma activa de la enfermedad según los criterios definidos en el NEDA-4. Sin embargo, una de las principales críticas a estos criterios que buscan establecer la *No evidencia de actividad de la enfermedad* es la baja especificidad y la falta de incorporación de datos relevantes como el estado cognitivo de los pacientes y la fatiga asociada, teniendo en cuenta que ambos aspectos tampoco son valorados de

forma fidedigna por la EDSS, la escala de discapacidad más utilizada en EM. Este punto resulta relevante, ya que los déficit y trastornos asociados a la EM sin representación en las escalas habituales de valoración de los pacientes, provocan un gran impacto en la calidad de vida y en el desarrollo de sus actividades de la vida diaria (*Dahdaleh et al., 2017; Hegen, Bsteh, & Berger, 2018; Lu et al., 2018; Stangel et al., 2015*).

Los problemas planteados en las escalas de medición de discapacidad, así como en las que pretenden establecer la evolución de los pacientes con EM y su respuesta al tratamiento, ponen en evidencia la necesidad cada vez mayor y urgente de marcadores precoces que cubran estos déficit y otorguen mayor sensibilidad y especificidad a la evaluación.

Al analizar la progresión de las alteraciones cognitivas de los pacientes estudiados, observamos que 12 (41,38 %) de los casos presentaron empeoramiento cognitivo respecto a los resultados obtenidos en la valoración basal.

El principal problema al que nos hemos enfrentado a la hora de realizar un estudio longitudinal que contemple la valoración cognitiva en pacientes con EM es la falta de consenso y la disponibilidad de criterios para definir progresión de los déficit o empeoramiento cognitivo. La mayoría de los estudios realizados son transversales y la valoración de la función cognitiva en un único punto puede generar falsos negativos debido a la pérdida de información, al no poder comparar dos evaluaciones separadas en el tiempo de un mismo paciente. Así, por ejemplo, la mayoría de los índices y criterios utilizados no tienen en cuenta co-

mo alteración el descenso del rendimiento en un test si este no supera el umbral establecido para definir la alteración de la prueba. De este modo, pacientes con rendimientos elevados por encima del percentil 50 pueden estar aún por encima del umbral con una caída de la puntuación del 1,5 o 2 DS, mientras que en el otro extremo, pacientes que presentan un rendimiento basal muy cercano al umbral con descensos inferiores al 1,5 SD pueden superar ese umbral y ser clasificados como alterados (*Sumowski et al., 2018*).

Precisamente para evitar errores de interpretación de los resultados y de clasificación de los pacientes respecto a la progresión de las alteraciones cognitivas, en el presente trabajo hemos realizado un análisis de los resultados obtenidos en los test de la valoración basal y de seguimiento bajo criterios estrictos (*ver metodología 3.4*), por dos investigadores (doctorando e investigador especializado en el tema) quienes definieron de forma independiente y posteriormente consensuaron la clasificación respecto al empeoramiento cognitivo de cada uno de los pacientes incluidos en el estudio. Asimismo, los criterios utilizados en el presente trabajo siguieron la metodología empleada en los estudios clínicos que demostraron la aplicabilidad de la batería neuropsicológica y los criterios para establecer el emperamiento cognitivo de los pacientes en el análisis longitudinal (*Kujala et al., 1997; J. A. Matías-Guiu, Cortés-Martínez, et al., 2017*).

Por su parte, cabe señalar que otro de los aspectos que resultan fundamentales para alcanzar resultados reproducibles y fiables es la uti-

lización de baterías con test neuropsicológicos que cuenten con datos normativos y validados en la población que serán aplicados.

Nueve de los pacientes que empeoraron cognitivamente agregaron déficit en nuevos dominios cognitivos no alterados en la valoración basal: 3 (10,34 %) de los casos en atención y función ejecutiva, 2 (6,90 %) IPS, 2 (6,90 %) lenguaje, 1 (3,45 %) VE, y 1 (3,45 %) presentó alteración de 2 nuevos dominios cognitivos, memoria e IPS. Nuevamente en estos resultados se refleja lo reportado por estudios previos respecto al mayor compromiso de la atención y de la IPS en pacientes con EM (*Costa et al., 2017; J. A. Matías-Guiu, Cortés-Martínez, et al., 2017; Van Schependom et al., 2015*).

No observamos diferencias significativas en la frecuencia de empeoramiento cognitivo entre las distintas formas clínicas de la enfermedad. En este estudio los tamaños de los grupos con formas progresivas de EM no nos permiten establecer diferencias en cuanto al patrón de deterioro cognitivo con las formas recurrentes remitentes, como ha sido reportado en trabajos anteriores (*Ruet, Deloire, Charre-Morin, Hamel, & Brochet, 2013*).

Finalmente, se analizó el cambio longitudinal de los volúmenes cerebrales por RM, observándose un aumento significativo de las lesiones de WM y agujeros negros entre la valoración basal y la de seguimiento. Un 48,28 % de los casos mostraron un AR-BVL mayor al 0,4 %.

A pesar de los cambios significativos en la RM entre los dos pun-

tos de evaluación, que pone en evidencia la presencia de actividad de la enfermedad en un porcentaje considerable de los casos, sustentado a su vez por los resultados obtenidos de un aumento significativo de la EDSS (48,28 % de los casos) y la frecuencia de casos con enfermedad activa según el NEDA 4 (79,31 %), no hallamos diferencias de los volúmenes cerebrales entre los grupos según la progresión de la discapacidad (EDSS) o actividad de la enfermedad (NEDA 4). Esto es consistente con estudios anteriores, que no reportan una asociación clara entre las características de neuroimagen al inicio del estudio y el cambio futuro en la puntuación de la EDSS (*Dwyer et al., 2018; Vertinsky et al., 2019*).

Sin embargo, si tenemos en cuenta que en el análisis transversal de los resultados clínicos y de RM basales se observó una correlación entre la EDSS, la carga lesional, el volumen de WM y el volumen talámico, los resultados mencionados previamente del análisis longitudinal podrían apoyar la falta de sensibilidad y especificidad de los marcadores actuales para estudiar la progresión de la enfermedad como refieren estudios previos (*Dahdaleh et al., 2017; Hegen et al., 2018*). Igualmente, debido al bajo cambio anual esperado en la puntuación de la EDSS, las características de la escala (*Rover, Nicholas, Straube, & Friede, 2015*), y el tamaño de la muestra estudiada no podemos excluir un error de tipo II en nuestro estudio. Tampoco hemos observado diferencias en los volúmenes cerebrales entre los grupos de pacientes con empeoramiento cognitivo y aquellos que se mantuvieron estables.

5.4. Relación de los resultados de la PET amiloide con el estudio longitudinal clínico, cognitivo y de RM

Finalmente, hemos analizado los resultados obtenidos en la valoración de seguimiento de los pacientes con los datos obtenidos de la PET amiloide. En este aspecto, uno de los resultados más relevantes del estudio es la asociación entre los resultados de la PET amiloide y la evolución de las alteraciones cognitivas durante el período de seguimiento de los pacientes con EM incluidos en el trabajo.

El SUVRc tanto en NAWM como en DWM fue menor en los pacientes que mostraron progresión de la alteración cognitiva en el tiempo. Sin embargo, salvo la carga lesional y el volumen talámico, que mostró una tendencia a la significación estadística (como ya había sido reportado por estudios previos), el resto de las medidas volumétricas obtenidas por RM no se asociaron a esta progresión (*Biseco et al., 2018*). Estos resultados sugieren que las imágenes de la PET amiloide, como mencionamos previamente, puede constituir un biomarcador del estado de la mielina, facilitar el pronóstico, -al menos con respecto al estado cognitivo de los pacientes con EM-, y aportar mayor información que la RM estructural en este aspecto.

Aunque estudios anteriores informan que los volúmenes de RM también pueden ayudar a predecir el estado cognitivo, especialmente en

muestras grandes de casos con EM (*Deloire et al., 2011; Eijlers et al., 2018*), nuestros resultados sugieren que los tamaños del efecto pueden ser inferiores a los obtenidos de las mediciones de la PET amiloide y por lo tanto encontrarnos frente a un biomarcador más precoz y sensible (*figura 5.2*).

Con respecto a los cambios en los niveles de discapacidad física, ninguna medición de PET se ha asociado con la evolución de la misma; esto se encuentra en la misma línea a lo observado y comentado previamente respecto a los hallazgos en RM.

Otros resultados a destacar corresponden a las correlaciones entre las mediciones de la PET y la RM. En la evaluación basal, la captación de ^{18}F -florbetabén en NAWM y en DWM correlacionó en forma negativa con el volumen de lesiones de WM y de agujeros negros, y en forma positiva con el volumen de GM; por su parte la captación en NAWM también correlacionó en forma positiva con el volumen talámico, mientras que la captación en DWM lo hizo con el TIV. Asimismo, se observó una correlación positiva de 0,62 ($p < 0,001$) entre la captación en NAWM y en DWM. Una disminución en la captación de NAWM y de DWM podría sugerir una mielinización más pobre (cualitativamente o cuantitativamente). Apoyando esto, en el estudio longitudinal se ha observado una correlación negativa entre la captación en NAWM y el cambio de volumen de lesión de WM; es decir, que una menor captación de NAWM en la PET basal se relacionó con un mayor aumento de lesiones de WM en el seguimiento, lo que sugiere que la PET amiloide podría ser predictiva

de alteraciones evidenciadas con posterioridad en la sustancia blanca en RM y que son indicativas de actividad de la enfermedad; reforzando lo que planteamos previamente sobre la posibilidad de encontrarnos frente a un biomarcador más precoz y sensible.

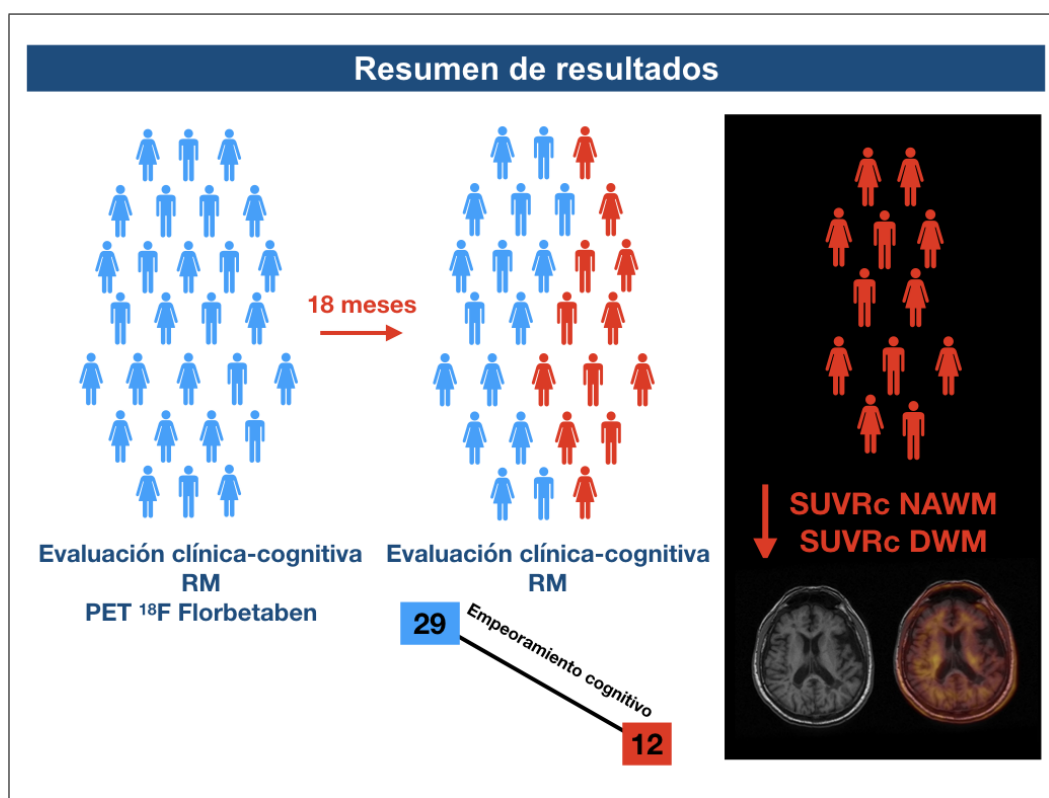


Figura 5.2: Resumen de resultados, relación entre los resultados de la PET y la evolución cognitiva de los pacientes. El SUVRc tanto en NAWM como en DWM fue menor en los pacientes que mostraron progresión de la alteración cognitiva en el tiempo.

5.5. Consideraciones finales, aplicaciones y perspectivas a futuro

En este apartado consideramos oportuno desarrollar algunas ideas finales relacionadas con los resultados obtenidos, sus posibles aplicaciones y las perspectivas a futuro de esta línea de investigación.

Actualmente, de forma general, se considera que existen dos hipótesis que pueden explicar la unión de trazadores amiloides a la sustancia blanca cerebral y la reducción de su captación en áreas de desmielinización. La primera de ellas es una posible similitud conformacional de la proteína amiloide presente en los agregados característicos de la enfermedad de Alzheimer (EA) y la mielina presente en la sustancia blanca del SNC. Por su parte, la segunda hipótesis se refiere al papel potencial que tiene la proteína precursora amiloide (APP) y su cadena metabólica en los procesos de desmielinización y remielinización en EM (*J. A. Matías-Guiu, Oreja-Guevara, et al., 2016*).

En los últimos años distintos trabajos han intentado estudiar la aplicación de trazadores amiloides en otras enfermedades (*Andrée et al., 2002; Carreras-Delgado, Pérez-Castejón, Jiménez-Vicioso, et al., 1997; Carreras-Delgado, Pérez-Castejón, Montz, et al., 1997; Masdeu et al., 2006; J. A. Matías-Guiu, Cabrera-Martín, Cortés-Martínez, et al., 2017; J. A. Matías-Guiu et al., 2015; J. A. Matías-Guiu, Pytel, et al., 2016*). Nuestro grupo ha publicado un estudio de correlación de captación de

radiotrazador amiloide con la proteína priónica humana, evidenciando la falta de especificidad de estos trazadores por la proteína amiloide presente en la EA (*J. A. Matías-Guiu, Guerrero-Marquez, et al., 2017*).

Aunque las alteraciones observadas en la PET con la administración de trazadores de amiloide pueden estar relacionadas con la similitud conformacional de la proteína amiloide y la mielina del SNC, en la EM también podría verse involucrado el compromiso de la activación de la vía de la APP y en consecuencia el mecanismo de desmielinización/remielinización característico en esta enfermedad.

Con el objetivo de comprender mejor esta hipótesis, nuestro grupo ha estudiado recientemente los cambios moleculares en la cadena de APP presentes en el cerebro de un paciente de 27 años de edad que falleció a causa de la variante fulminante de Marburg. Se han observado modificaciones en la expresión de la APP y de los marcadores moleculares de la vía de la APP, que podrían estar relacionados con la destrucción proteolítica de la APP en la desmielinización, y por otro lado, con el intento de activación de la vía de la APP para la remielinización de regiones dañadas (*ver figura 4.11*) (*Matías-Guiu JA, 2019, manuscript submitted for publication; Oreja-Guevara et al., 2017*) (*figura 5.3*).

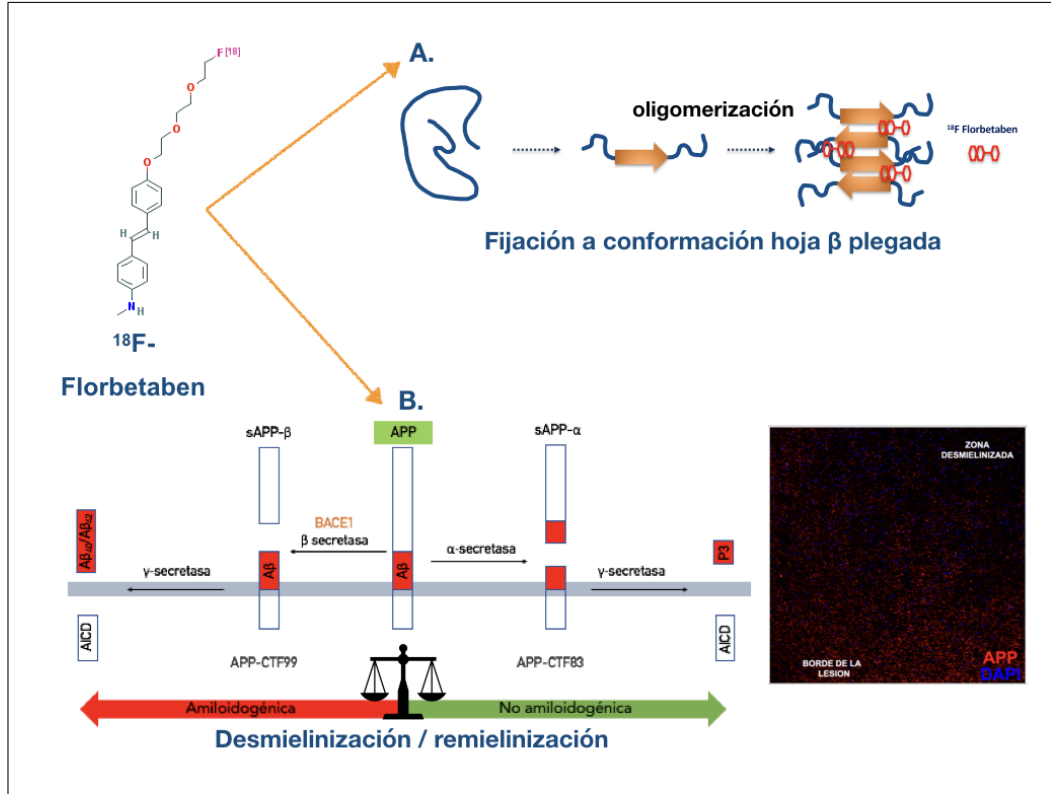


Figura 5.3: Hipótesis de captación de radiotrazadores amiloides en la sustancia blanca del SNC. Existen dos hipótesis que podrían explicar la unión de trazadores amiloides a la sustancia blanca cerebral: A. Una posible similitud conformacional de la proteína amiloide y la mielina y B. el potencial papel de la proteína precursora amiloide (APP) en procesos de desmielinización/remielinización. Imagen de microscopía confocal, donde se observa, el marcaje para APP en una zona de lesión de un paciente con una variante fulminante de Marburg. Se observa en la vecindad de esta lesión que el marcaje para APP se presenta con mayor intensidad, mientras que en zona desmielinizada (centro de la lesión) éste se observa reducido. El incremento de APP puede deberse a mecanismos compensatorios que buscan restablecer los procesos de remielinización. Inmunohistoquímica para APP (ab126732, dilución 1/100, Amyloid Precursor Protein) corte en parafina a 5mm. Anticuerpo secundario, 488 Goat anti Rabbit IgG 1/500. DAPI 1/2000. Imagen adquirida en objetivo de 10X. **APP:** Amyloid Precursor Protein; **AICD:** The amyloid precursor protein intracellular domain; **BACE:** Beta-secretase 1.

Estos hallazgos resultan destacables y de gran relevancia ya que de confirmarse esta hipótesis la PET amiloide podría representar una herramienta útil no sólo para la valoración de la desmielinización sino también para la valoración del mecanismo de remielinización en la EM.

Asimismo, los resultados obtenidos del estudio longitudinal de la cohorte de pacientes con EM analizada en el presente estudio mediante un amplio protocolo clínico, cognitivo y de neuroimágenes, sugiere que la PET con radiotrazadores amiloide podría ser predictiva de alteraciones cognitivas observadas con posterioridad en RM; evidenciando así la posibilidad de su utilización como un biomarcador más precoz y sensible de actividad de la enfermedad, al menos desde el punto de vista cognitivo. Con este objetivo se ha calculado un modelo de predicción de empeoramiento cognitivo que utiliza el SURVc NAWM como medida independiente para realizar dicha discriminación.

La utilidad del PET amiloide como biomarcador del grado de desmielinización, y predictor precoz de empeoramiento cognitivo, podría constituir una herramienta clínicamente útil y aplicable a la hora de comprender mejor los mecanismos subyacentes que desencadenan la actividad de la enfermedad. También pueden contribuir de forma precisa a establecer tratamientos personalizados de acuerdo al pronóstico evolutivo de los pacientes, su estado de desmielinización y la capacidad de respuesta a terapias que tengan como objetivo actuar sobre la remielinización (*J. Matías-Guiu, Gomez-Pinedo, & Matías-Guiu, 2017; Plemel, Liu, & Yong, 2017*).

5.6. Limitaciones del estudio

Nuestro estudio presenta algunas limitaciones. En primer lugar, hemos utilizado una adquisición estática para la PET que permite una medición semicuantitativa, en lugar de un protocolo dinámico de adquisición que otorga la posibilidad de llevar a cabo una medición cuantitativa y con mayor precisión del radiotrazador. Esto obliga a utilizar una región de referencia, que en nuestro caso ha sido el cerebelo, basado en estudios previos de la literatura así como en los propios resultados de la tesis, que apoyan la utilización de esta área. Además, la PET estática es más adecuada para su aplicación en la práctica clínica diaria debido a que representa una técnica más disponible y por lo tanto óptima para su traslación clínica.

En segundo lugar, solo se han incluido en el protocolo resonancias magnéticas estructurales. Sin embargo, como mencionamos previamente, otras secuencias como imágenes de difusión, RM funcional y otras secuencias específicas podrían ser de interés en estudios futuros para analizar la correlación entre el estado de mielina y la arquitectura microestructural de la sustancia blanca, así como su impacto en la conectividad cerebral.

Otro aspecto a tener en cuenta respecto a la inclusión de pacientes en el estudio es la utilización de los criterios de McDonald de 2010 (*Polman et al., 2011*), en lugar de la última actualización de 2017 (*Thompson, Banwell, et al., 2018*). Esto se debe a que el período de inclusión

de pacientes ha sido realizado con anterioridad a la publicación de esta última actualización, entre enero de 2015 y marzo de 2016. Este punto, aunque puede constituir una limitación en la selección e inclusión de pacientes, no consideramos que haya impactado en los resultados obtenidos, ya que el objetivo planteado fue el análisis de la evolución longitudinal de los pacientes y no el diagnóstico de la enfermedad, como así tampoco la conversión de CIS a EM.

Respecto al análisis estadístico, el número de comparaciones y correlaciones realizadas aumenta el riesgo de error tipo I. Con el fin de reducir esta posibilidad ha sido realizado una corrección por comparaciones múltiples utilizando *false discovery rate*.

Finalmente, otra limitación a señalar se refiere a la heterogeneidad de tratamientos modificadores de la enfermedad en la cohorte, tanto al inicio del estudio como a lo largo de la evolución, durante la cual 8 casos modificaron el tratamiento, 6 por evidencia de actividad y 2 por decisión del paciente. Sin embargo, dado que los actuales tratamientos no presentan un efecto remielinizador, consideramos que esto no debería impactar en los principales resultados del estudio.

Capítulo 6

Conclusiones

A partir de los resultados obtenidos y tras contrastar dichos hallazgos con la literatura, se han alcanzado las siguientes conclusiones:

1. En un análisis transversal de los resultados obtenidos, la captación del radiotrazador amiloide está asociada a marcadores clínicos, cognitivos y de neuroimagen estructural, reflejando el grado de desmielinización/remielinización y la actividad de la EM.
2. Desde una perspectiva longitudinal, la menor captación del radiotrazador amiloide en la sustancia blanca cerebral de apariencia normal está asociada al declive cognitivo de los pacientes.

Asimismo, se ha llegado a las siguientes conclusiones secundarias:

- La captación del radiotrazador amiloide en NAWM presentó una relación inversa con la EDSS al inicio del estudio. Sin embargo,

ninguna medición de la PET se relacionó con la evolución de la discapacidad física de los pacientes durante el seguimiento.

- Las alteraciones cognitivas de nuestra cohorte se presentaron asociadas a mayor puntaje de EDSS y con mayor frecuencia en los casos con formas progresivas de la enfermedad.
- Una menor captación del radiotrazador amiloide en NAWM se correlacionó con un aumento del volumen de lesiones de WM en RM en el seguimiento.
- Los casos con EMRR presentaron una captación menor en NAWM que los casos con formas EMPP.
- La captación del radiotrazador ^{18}F -florbetabén en NAWM presentó una correlación positiva con los resultados obtenidos de la FCRO.

Resumen

PET AMILOIDE EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE

6.1. Introducción

La esclerosis múltiple (EM) es la enfermedad desmielinizante más frecuente y la primera causa de discapacidad neurológica no traumática en adultos jóvenes. Es clínicamente heterogénea, incluye síntomas motores, cognitivos y fatiga. Esto es el resultado de una combinación de los principales procesos fisiopatológicos involucrados: inflamación, desmielinización, daño axonal y neurodegeneración.

En los últimos años, se han desarrollado distintas terapias modificadoras de la enfermedad, dirigidas a actuar sobre el sistema inmunitario, con un efecto antiinflamatorio, que tienen por objetivo de intentar prevenir las recaídas y ralentizar la progresión de la discapacidad.

La resonancia magnética (RM) es la técnica de neuroimagen más utilizada para el diagnóstico, permite detectar lesiones de sustancia blanca

(WM) y evidenciar actividad inflamatoria con alta sensibilidad. Sin embargo, es limitada para evaluar desmielinización/remielinización. En este sentido, la Tomografía por Emisión de Positrones (PET) con trazadores amiloides ha sido propuesta como una técnica prometedora para evaluar la pérdida de mielina *in vivo*.

Los trazadores amiloides muestran una captación fisiológica en WM debido a las similitudes estructurales entre las fibrillas amiloides y la proteína básica de la mielina. Estudios previos confirmaron la unión de trazadores amiloides a la WM y evidenciaron una menor captación en la sustancia blanca dañada (DWM) en comparación con la sustancia blanca de apariencia normal (NAWM).

Demostrar las aplicaciones clínicas potenciales de la PET puede llevar a nuevas indicaciones para los trazadores amiloides más allá de las demencias. Asimismo, podrían permitir evaluar *in vivo* el proceso de desmielinización/remielinización en la EM, probablemente el aspecto sin resolver más importante para avanzar en un tratamiento personalizado.

El objetivo de este estudio fue evaluar el estado de desmielinización/remielinización mediante PET con ^{18}F -florbetabén en una cohorte de pacientes con EM y analizar la progresión clínica-cognitiva en relación con los resultados obtenidos. También se estudió la asociación entre la función cognitiva y las medidas de neuroimagen estructural con la captación del trazador PET al inicio del estudio y a los 18 meses de seguimiento.

6.2. Materiales y métodos

Se estudiaron 29 pacientes con EM en forma longitudinal con RM estructural y un protocolo clínico-neuropsicológico completo, con un intervalo medio entre evaluaciones de $18 \pm 3,31$ meses. Al inicio del estudio se realizó PET con ^{18}F -Florbetabén.

El protocolo incluyó datos demográficos, clínicos, una batería de test neuropsicológicos normalizados del protocolo NEURONORMA, escalas de fatiga y depresión.

En las RM se analizaron volúmenes de WM, sustancia gris (GM), volumen cerebral total (TIV), porcentaje de cambio del TIV, volumen talámico, carga lesional y agujeros negros.

Finalmente, se analizó la captación de ^{18}F -Florbetabén en DWM y NAWM. Se utilizó el cerebelo como región de referencia. Los resultados obtenidos se correlacionaron con los datos clínicos, cognitivos y de RM.

6.3. Resultados

Se incluyeron 17 mujeres (58,60 %), 12 varones (41,40 %), con una edad media de $44,41 \pm 8,75$ años. El tiempo de evolución de la enfermedad fue $14,48 \pm 6,05$ años, y la puntuación de la EDSS fue $3,56 \pm 1,76$. 18 (62,07 %) de los casos presentaron forma clínica recurrente remitente, 6 (20,69 %) secundaria progresiva y 5 (17,24 %) primaria progresiva.

La media de captación relativa en NAWM (SUVRc) fue mayor que en DWM ($1,61 \pm 0,15$; $1,31 \pm 0,14$; $P < 0,001$), observándose una correlación positiva de 0,62 ($p < 0,001$) entre ambos. El porcentaje de cambio fue $-18,32 \pm 7,87 \%$.

En el seguimiento 15 (51,72 %) de los casos presentaron cambio significativo de la puntuación de la EDSS y 12 (41,38 %) empeoramiento cognitivo.

No se han observado diferencias significativas en el SUVRc NAWM, SUVRc DWM ni en el porcentaje de variación ($U=105$, $p=1,00$; $U=102$ $p=0,896$; $U=87$ $p=0,432$), tampoco en los volúmenes cerebrales de la RM basal en los pacientes que presentaron un cambio significativo de la EDSS.

Los pacientes con empeoramiento cognitivo presentaron un SUVRc NAWM menor ($1,52 \pm 0,14$) respecto al grupo cognitivamente estable ($1,67 \pm 0,13$); $U=42$, $p=0,011$; y una reducción de la SUVRc DWM ($1,23 \pm 0,11$ vs $1,37 \pm 0,13$, $U=44$, $p=0,015$). Los pacientes que empeoraron cognitivamente presentaron mayor carga lesional ($15,25 \pm 8,72$ vs $9,17 \pm 11,17$; $U=49$, $p=0,029$) y tendencia a un menor volumen talámico ($13,84 \pm 2,25$ vs $15,61 \pm 1,95$; $U=55$, $p=0,059$), sin otras diferencias en los volúmenes medidos.

El SUVRc NAWM presentó correlación moderada inversa con el cambio de volumen de lesión de WM ($r=-0,44$, $p=0,020$).

6.4. Discusión

En nuestro conocimiento, este es el estudio con la mayor cohorte de pacientes con EM en utilizar PET con ^{18}F -Florbetabén, y el primero en analizar la evolución clínica-cognitiva y de RM con los resultados obtenidos de la PET.

La captación del radiotrazador fue menor en DWM que en NAWM. Esto confirma los resultados de estudios previos que muestran que los trazadores amiloides son sensibles a la desmielinización.

Uno de los resultados más importantes es la asociación entre las medidas de PET y el deterioro cognitivo durante el seguimiento. El SUVRc tanto en NAWM como en DWM fue menor en los pacientes que empeoraron desde el punto de vista cognitivo. Por el contrario, en RM sólo la carga lesional y el volumen talámico mostraron una relación con esta evolución. Estos resultados sugieren que las imágenes de PET con radiotrazadores amiloides, como biomarcador del estado de la mielina, podrían proporcionar información pronóstica, al menos en este aspecto y podrían ser más informativas que los volúmenes estructurales de RM. Aunque estudios anteriores reportan que los volúmenes de RM también pueden ayudar a predecir la evolución cognitiva, especialmente en muestras grandes, nuestros resultados sugieren que los tamaños del efecto pueden ser inferiores a los de la PET.

Con respecto a los cambios en los niveles de discapacidad física, nin-

guna medición de PET o RM mostraron asociación, esto es consistente con resultados de estudios anteriores.

Otro hallazgo interesante es la correlación entre las mediciones de PET y la RM. La captación en NAWM se asoció longitudinalmente con cambios en la carga lesional, lo que sugiere que la PET amiloide podría ser predictiva de alteraciones posteriores de RM que indican actividad de la enfermedad.

6.5. Conclusiones

La captación del radiotrazador amiloide está asociada a marcadores clínicos, cognitivos y de neuroimagen estructural, reflejando el grado de desmielinización/remielinización y la actividad de la EM. Asimismo, la menor captación del radiotrazador amiloide en la sustancia blanca cerebral de apariencia normal está asociada al declive cognitivo de los pacientes con EM.

Palabras clave: amiloide; deterioro cognitivo; esclerosis múltiple; ¹⁸F-Florbetabén; mielina; tomografía por emisión de positrones.

Abstract

AMYLOID PET IN MULTIPLE SCLEROSIS

6.6. Introduction

Multiple sclerosis (MS) is the most common demyelinating disease and the main cause of non-traumatic neurological disability in young adults. It is a clinically heterogeneous disease, including motor, cognitive and fatigue symptoms. This is the result of a combination of the main pathophysiological processes involved: inflammation, demyelination, axonal damage and neurodegeneration.

In recent years, various disease-modifying therapies have been developed, aimed at acting on the immune system, with an anti-inflammatory effect that prevents relapses and slows the progression of disability.

Magnetic resonance imaging (MRI) is the most commonly used neuroimaging technique for diagnosis. It allows to detect white matter (WM) lesions and evidence inflammatory activity with high sensitivity. Howe-

ver, it is limited to evaluate demyelination/remyelination. In this sense, Positron Emission Tomography (PET) with amyloid tracers has been proposed as a promising technique to evaluate *in vivo* myelin loss.

Amyloid tracers show physiological uptake in WM due to structural similarities between amyloid fibrils and the myelin basic protein. Previous studies confirmed the binding of amyloid tracers to WM and evidenced a lower uptake in damaged white matter (DWM) compared to normal-appearing white matter (NAWM).

Demonstrating the potential clinical applications of PET may lead to new indications for amyloid tracers beyond dementias. They could also allow *in vivo* evaluation of the demyelination/remyelination process in MS, probably the most important unresolved issue for advancing personalized treatment.

The objective of this study was to evaluate the demyelination/remyelination status using PET with ^{18}F -florbetaben in a cohort of MS patients and to analyze clinical-cognitive progression in relation to the results obtained. The association between cognitive function and structural neuroimaging measures with PET tracer uptake was also studied at the beginning of the study and at 18 months of follow-up.

6.7. Methods

Twenty-nine patients with MS were longitudinally studied with structural MRI and a complete clinical-neuropsychological protocol, with a mean interval between evaluations of 18 ± 3.31 months. PET with ^{18}F -Florbetaben was realized at the beginning of the study.

The protocol included demographic, clinical data, and a battery of neuropsychological tests standardized in the NEURONORMA protocol, fatigue and depression scales.

In the MRI, volumes of WM, grey matter (GM), total brain volume (TIV), percentage of TIV change, thalamic volume, lesional load and black holes were analyzed.

Finally, the uptake of ^{18}F -Florbetaben in DWM and NAWM was studied. The cerebellum was used as reference region. The results obtained were correlated with clinical, cognitive and MRI data.

6.8. Results

We included 17 women (58.60 %), 12 men (41.40 %), with a mean age of 44.41 ± 8.75 years. The time of disease evolution was 14.48 ± 6.05 years, and the EDSS score was 3.56 ± 1.76 . 18 (62.07 %) of cases had recurrent remitting clinical form, 6 (20.69 %) secondary progressive MS and 5 (17.24 %) primary progressive MS.

The mean relative uptake in NAWM (SUVRc) was higher than in DWM (1.61 ± 0.15 ; 1.31 ± 0.14 ; $P < 0.001$), with a positive correlation of 0.62 ($p < 0.001$) between both. The percentage change was $-18.32 \pm 7.87 \%$.

At follow-up, 15 (51.72 %) of the cases showed significant change in EDSS score and 12 (41.38 %) cognitive decline.

No significant differences were observed in the SUVRc NAWM, SUVRc DWM or in the percentage variation ($U=105$, $p=1.00$; $U=102$ $p=0.896$; $U=87$ $p=0.432$), neither in the brain volumes of the basal MRI in the patients who presented a significant change in the EDSS.

Patients with cognitive impairment had a lower SUVRc NAWM (1.52 ± 0.14) than the cognitively stable group (1.67 ± 0.13); $U=42$, $p=0.011$; and a reduction in SUVRc DWM was also observed in this group (1.23 ± 0.11 vs 1.37 ± 0.13 , $U=44$, $p=0.015$). Patients who showed cognitively worsened presented greater lesional load (15.25 ± 8.72 vs 9.17 ± 11.17 ; $U=49$, $p=0.029$) and a tendency to lower thalamic volume (13.84 ± 2.25 vs 15.61 ± 1.95 ; $U=55$, $p=0.059$), with no other differences in the volumes measured.

The SUVRc NAWM presented a moderate inverse correlation with the change in lesion volume of WM ($r=-0.44$, $p=0.020$).

6.9. Discussion

To our knowledge, this is the study with the largest cohort of patients with MS using PET with ^{18}F -Florbetaben, and the first one to analyze the clinical-cognitive and MR evolution involving the results obtained from PET.

Radiotracer uptake was lower in DWM than in NAWM. This confirms the results of previous studies showing that amyloid tracers are sensitive to demyelination.

One of the most important results is the association between PET measurements and cognitive impairment during follow-up. The SUVRc in both NAWM and DWM was lower in patients who worsened cognitively. On the other hand, in MRI only the lesional load and thalamic volume showed a relationship with this evolution. These results suggest that PET images with amyloid radiotracers, as a biomarker of myelin status, could provide prognostic information, at least in this aspect and could be more informative than structural MRI volumes. Although previous studies report that MRI volumes may also help predict cognitive evolution, especially in large samples, our results suggest that effect sizes may be smaller than PET.

With regard to changes in physical disability levels, no PET or MRI measurements showed association, and this is consistent with results from previous studies.

Another interesting finding is the correlation between PET measurements and MRI. Uptake in NAWM was longitudinally associated with changes in lesion load, suggesting that amyloid PET may be predictive of subsequent MRI alterations indicating disease activity.

6.10. Conclusions

Amyloid radiotracer uptake is associated with clinical, cognitive and structural neuroimaging markers, reflecting the degree of demyelination/remyelination and MS activity. Likewise, the lower uptake of the amyloid radiotracer in the normal-appearing cerebral white matter is associated with cognitive decline in MS patients.

Keywords: Amyloid [D000682]; Cognition [F02.463.188]; ^{18}F Florbetaben [C527756]; Multiple Sclerosis [C20.111.258.250.500]; Myelin Proteins [D12.776.543.620]; Positron-Emission Tomography [E01.370.350.350.800.700].

Bibliografía

Abdelhak, A., Weber, M. S., & Tumani, H. (2017). Primary Progressive Multiple Sclerosis: Putting Together the Puzzle. *Front Neurol*, 8, 234.

Adler, G., & Lembach, Y. (2015). Memory and selective attention in multiple sclerosis: cross-sectional computer-based assessment in a large outpatient sample. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 265(5), 439-443.

Airas, L., Rissanen, E., & Rinne, J. O. (2015). Imaging neuroinflammation in multiple sclerosis using TSPO-PET. *Clin Transl Imaging*, 3, 461-473.

Allen, I. V., McQuaid, S., Mirakhur, M., & Nevin, G. (2001). Pathological abnormalities in the normal-appearing white matter in multiple sclerosis. *Neurol Sci*, 22(2), 141-144.

Alonso, A., & Hernan, M. A. (2008). Temporal trends in the incidence of multiple sclerosis: a systematic review. *Neurology*, 71(2), 129-135.

Amatya, B., Khan, F., & Galea, M. (2019). Rehabilitation for people with multiple sclerosis: an overview of Cochrane Reviews. *Cochrane Database Syst Rev*, 1, CD012732.

Anderson, V. M., Fox, N. C., & Miller, D. H. (2006). Magnetic resonance imaging measures of brain atrophy in multiple sclerosis. *J Magn Reson Imaging*, 23(5), 605-618.

Andreasen, A. K., Iversen, P., Marstrand, L., Siersma, V., Siebner, H. R., & Sellebjerg, F. (2018). Structural and cognitive correlates of fatigue in progressive multiple sclerosis. *Neurol Res*, 1-9.

Andrée, R. M., Vicioso, A. J., Jáuregui, J. C., Aliño, J. L.-I., & Delgado, J. C. (2002). PET en neurología y psiquiatría I. PET con FDG en el estudio del SNC. *Revista Española de Medicina Nuclear*, 21(5), 370-386.

Ashburner, J., & Friston, K. J. (2000). Voxel-based morphometry—the methods. *Neuroimage*, 11(6 Pt 1), 805-821.

Bailey, D. L. (2005). *Positron emission tomography : basic sciences*. New York: Springer.

Bailey, D. L., Maisey, M. N., Townsend, D. W., & Valk, P. E. (2005). *Positron emission tomography*: Springer.

Banati, R. B., Newcombe, J., Gunn, R. N., Cagnin, A., Turkheimer, F., Heppner, F., . . . Myers, R. (2000). The peripheral benzodiazepine binding site in the brain in multiple sclerosis: quantitative in vivo imaging of microglia as a measure of disease activity. *Brain*, 123 (Pt 11), 2321-2337.

Baranzini, S. E. (2009). The genetics of autoimmune diseases: a networked perspective. *Curr Opin Immunol*, 21(6), 596-605.

Bartsch, A. J., Bendszus, N., De Stefano, N., Homola, G., & Smith, S. (2004). *Extending SIENA for a multi-subject statistical analysis of sample-specific cere-*

bral edge shifts: Substantiation of early brain regeneration through abstinence from alcoholism. Paper presented at the Tenth Int. Conf. Funct. Mapp. Hum. Brain.

Bartulos Iglesias, M., Marzo Sola, M. E., Estrella Ruiz, L. A., & Bravo Anguiano, Y. (2015). Epidemiological study of multiple sclerosis in La Rioja. *Neurología*, 30(9), 552-560.

Battaglini, M., Jenkinson, M., & De Stefano, N. (2012). Evaluating and reducing the impact of white matter lesions on brain volume measurements. *Hum Brain Mapp*, 33(9), 2062-2071.

Beaulieu, C., Johansen-Berg, H., & Behrens, T. E. J. (2014). *Diffusion MRI: from quantitative measurement to in-vivo neuroanatomy. Chapter 6: The biological basis of diffusion anisotropy*. Amsterdam: Elsevier Science.

Beck, A. T. (1961). A systematic investigation of depression. *Compr Psychiatry*, 2, 163-170.

Benadiba, M., Luurtsema, G., Wichert-Ana, L., Buchpigel, C. A., & Busatto Filho, G. (2012). New molecular targets for PET and SPECT imaging in neurodegenerative diseases. *Braz J Psychiatry*, 34 Suppl 2, S125-136.

Benedict, R. H., Fischer, J. S., Archibald, C. J., Arnett, P. A., Beatty, W. W., Bobholz, J., . . . Munschauer, F. (2002). Minimal neuropsychological assessment of MS patients: a consensus approach. *Clin Neuropsychol*, 16(3), 381-397.

Benedict, R. H., & Zivadinov, R. (2011). Risk factors for and management of cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*, 7(6), 332-342.

Benjamini, Y., & Hochberg, Y. (1995). Controlling the false discovery rate:

a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the royal statistical society. Series B (Methodological)*, 289-300.

Benton, A., Hannay, H. J., & Varney, N. R. (1975). Visual perception of line direction in patients with unilateral brain disease. *Neurology*, 25(10), 907-907.

Benton, A. L., Sivan, A. B., deS Hamsher, K., & Varney, N. R. (1994). *Contributions to neuropsychological assessment: A clinical manual*: Oxford University Press, USA.

Bergeron, D., Gorno-Tempini, M. L., Rabinovici, G. D., Santos-Santos, M. A., Seeley, W., Miller, B. L., . . . Ossenkoppele, R. (2018). Prevalence of amyloid-beta pathology in distinct variants of primary progressive aphasia. *Ann Neurol*, 84(5), 729-740.

Bermel, R. A., & Bakshi, R. (2006). The measurement and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*, 5(2), 158-170.

Bisecco, A., Stamenova, S., Caiazzo, G., d'Ámbrosio, A., Sacco, R., Docimo, R., . . . Gallo, A. (2018). Attention and processing speed performance in multiple sclerosis is mostly related to thalamic volume. *Brain Imaging Behav*, 12(1), 20-28.

Bodini, B., Veronese, M., García-Lorenzo, D., Battaglini, M., Poirion, E., Chardain, A., . . . Stankoff, B. (2016). Dynamic Imaging of Individual Remyelination Profiles in Multiple Sclerosis. *Ann Neurol*, 79(5), 726-738.

Brownlee, W. J., Hardy, T. A., Fazekas, F., & Miller, D. H. (2017). Diagnosis of multiple sclerosis: progress and challenges. *Lancet*, 389(10076), 1336-1346.

Bruck, W. (2005). The pathology of multiple sclerosis is the result of focal

inflammatory demyelination with axonal damage. *J Neurol*, 252 Suppl 5, v3-9.

Burman, J., Zetterberg, H., Fransson, M., Loskog, A. S., Raininko, R., & Fagius, J. (2014). Assessing tissue damage in multiple sclerosis: a biomarker approach. *Acta Neurol Scand*, 130(2), 81-89.

Buschke, H. (1973). Selective reminding for analysis of memory and learning. *Journal of Verbal Learning and Verbal Behavior*, 12(5), 543-550.

Buschke, H. (1984). Cued recall in amnesia. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*, 6(4), 433-440.

Buzzard, K., Chan, W. H., Kilpatrick, T., & Murray, S. (2017). Multiple Sclerosis: Basic and Clinical. *Adv Neurobiol*, 15, 211-252.

Carreras-Delgado, J., Pérez-Castejón, M., Jiménez-Vicioso, A., Melgarejo, M., Kiblawi, S., & Madariaga, P. (1997). Características de la tomografía por emisión de positrones. Principales aplicaciones en Neurología. *Rev Neurol*, 25, 404-414.

Carreras-Delgado, J., Pérez-Castejón, M., Montz, R., Maldonado, A., & Gorospe, E. (1997). La tomografía por emisión de positrones en el estudio de la epilepsia. *Rev Neurol*, 25, 418-423.

Carswell, R. (1838). *Pathological anatomy: illustrations of the elementary forms of disease*: Longman, Orme, Brown, Green and Longman.

Catafau, A. M., & Bullich, S. (2015). Amyloid PET imaging: applications beyond Alzheimer's disease. *Clin Transl Imaging*, 3(1), 39-55.

Charcot, M. (1868). *Histologie de la sclerose en plaque*. *Gaz. Hosp.*, 41, 554-

556.

Chiaravalloti, N. D., & DeLuca, J. (2008). Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*, 7(12), 1139-1151.

Ciccarelli, O., Barkhof, F., Bodini, B., De Stefano, N., Golay, X., Nicolay, K., . . . Miller, D. H. (2014). Pathogenesis of multiple sclerosis: insights from molecular and metabolic imaging. *Lancet Neurol*, 13(8), 807-822.

Clark, C. M., Pontecorvo, M. J., Beach, T. G., Bedell, B. J., Coleman, R. E., Doraiswamy, P. M., . . . Group, A.-A. S. (2012). Cerebral PET with florbetapir compared with neuropathology at autopsy for detection of neuritic amyloid-beta plaques: a prospective cohort study. *Lancet Neurol*, 11(8), 669-678.

Colasanti, A., Guo, Q., Muhlert, N., Giannetti, P., Onega, M., Newbould, R. D., . . . Matthews, P. M. (2014). In Vivo Assessment of Brain White Matter Inflammation in Multiple Sclerosis with (18)F-PBR111 PET. *J Nucl Med*, 55(7), 1112-1118.

Compston, A., & Coles, A. (2008). Multiple sclerosis. *Lancet*, 372(9648), 1502-1517.

Compston, D. A. (1990). The dissemination of multiple sclerosis. The Langdon-Brown lecture 1989. *J R Coll Physicians Lond*, 24(3), 207-218.

Compston, D. A., Kellar Wood, H., Robertson, N., Sawcer, S., & Wood, N. W. (1995). Genes and susceptibility to multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand Suppl*, 161, 43-51.

Confavreux, C., Vukusic, S., Moreau, T., & Adeleine, P. (2000). Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. *N Engl J Med*, 343(20),

1430-1438.

Costa, S. L., Genova, H. M., DeLuca, J., & Chiaravalloti, N. D. (2017). Information processing speed in multiple sclerosis: Past, present, and future. *Mult Scler*, 23(6), 772-789.

Cruveilhier, J. (1829). *Anatomie pathologique du corps humain*: J.B. Baillière.

Culbertson, W. C., & Zillmer, E. (2001). *Tower of London-Drexel University (TOLDX)*: Multi-Health Systems.

Cunnusamy, K., Baughman, E. J., Franco, J., Ortega, S. B., Sinha, S., Chaudhary, P., . . . Karandikar, N. J. (2014). Disease exacerbation of multiple sclerosis is characterized by loss of terminally differentiated autoregulatory CD8+ T cells. *Clin Immunol*, 152(1-2), 115-126.

Dahdaleh, M., Alroughani, R., Aljumah, M., AlTahan, A., Alsharoqi, I., Bohlega, S. A., . . . Zakaria, M. (2017). Intervening to reduce the risk of future disability from multiple sclerosis: are we there yet? *Int J Neurosci*, 127(10), 944-951.

Damjanovic, D., Valsasina, P., Rocca, M. A., Stromillo, M. L., Gallo, A., Enzinger, C., . . . Filippi, M. (2017). Hippocampal and Deep Gray Matter Nuclei Atrophy Is Relevant for Explaining Cognitive Impairment in MS: A Multicenter Study. *AJNR Am J Neuroradiol*, 38(1), 18-24.

Davies, G. R., Altmann, D. R., Hadjiprocopis, A., Rashid, W., Chard, D. T., Griffin, C. M., . . . Miller, D. H. (2005). Increasing normal-appearing grey and white matter magnetisation transfer ratio abnormality in early relapsing-

remitting multiple sclerosis. *J Neurol*, 252(9), 1037-1044.

de Sa, J. (2010). Epidemiology of multiple sclerosis in Portugal and Spain. *Rev Neurol*, 51(7), 387-392.

De Stefano, N., Giorgio, A., Battaglini, M., Rovaris, M., Sormani, M. P., Barkhof, F., . . . Filippi, M. (2010). Assessing brain atrophy rates in a large population of untreated multiple sclerosis subtypes. *Neurology*, 74(23), 1868-1876.

De Stefano, N., Stromillo, M. L., Giorgio, A., Bartolozzi, M. L., Battaglini, M., Baldini, M., . . . Sormani, M. P. (2016). Establishing pathological cut-offs of brain atrophy rates in multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 87(1), 93-99.

Degenhardt, A., Ramagopalan, S. V., Scalfari, A., & Ebers, G. C. (2009). Clinical prognostic factors in multiple sclerosis: a natural history review. *Nat Rev Neurol*, 5(12), 672-682.

Dehmeshki, J., Chard, D. T., Leary, S. M., Watt, H. C., Silver, N. C., Tofts, P. S., . . . Miller, D. H. (2003). The normal appearing grey matter in primary progressive multiple sclerosis: a magnetisation transfer imaging study. *J Neurol*, 250(1), 67-74.

Deloire, M. S., Ruet, A., Hamel, D., Bonnet, M., Dousset, V., & Brochet, B. (2011). MRI predictors of cognitive outcome in early multiple sclerosis. *Neurology*, 76(13), 1161-1167.

Dendrou, C. A., Fugger, L., & Friese, M. A. (2015). Immunopathology of multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol*, 15(9), 545-558.

Di Filippo, M., Portaccio, E., Mancini, A., & Calabresi, P. (2018). Multiple sclerosis and cognition: synaptic failure and network dysfunction. *Nat Rev Neurosci*, 19(10), 599-609.

Domingues, R. B., Fernandes, G. B. P., Leite, F., Tilbery, C. P., Thomaz, R. B., Silva, G. S., . . . Soares, C. A. S. (2017). The cerebrospinal fluid in multiple sclerosis: far beyond the bands. *Einstein (Sao Paulo)*, 15(1), 100-104.

Dulamea, A. O. (2017). Role of Oligodendrocyte Dysfunction in Demyelination, Remyelination and Neurodegeneration in Multiple Sclerosis. *Adv Exp Med Biol*, 958, 91-127.

Dutta, R., & Trapp, B. D. (2014). Relapsing and progressive forms of multiple sclerosis: insights from pathology. *Curr Opin Neurol*, 27(3), 271-278.

Dwyer, M. G., Bergsland, N., Ramasamy, D. P., Jakimovski, D., Weinstock-Guttman, B., & Zivadinov, R. (2018). Atrophied Brain Lesion Volume: A New Imaging Biomarker in Multiple Sclerosis. *J Neuroimaging*, 28(5), 490-495.

Eijlers, A. J. C., van Geest, Q., Dekker, I., Steenwijk, M. D., Meijer, K. A., Hulst, H. E., . . . Geurts, J. J. G. (2018). Predicting cognitive decline in multiple sclerosis: a 5-year follow-up study. *Brain*, 141(9), 2605-2618.

Eriksson, M., Andersen, O., & Runmarker, B. (2003). Long-term follow up of patients with clinically isolated syndromes, relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis. *Mult Scler*, 9(3), 260-274.

Fazekas, F., Offenbacher, H., Fuchs, S., Schmidt, R., Niederkorn, K., Horner, S., & Lechner, H. (1988). Criteria for an increased specificity of MRI interpretation in elderly subjects with suspected multiple sclerosis. *Neurology*,

38(12), 1822-1825.

Fernández, O., Fernández, V., Guerrero, M., León, A., López-Madrona, J. C., Alonso, A., . . . de Ramón, E. (2012). Multiple sclerosis prevalence in Málaga, Southern Spain estimated by the capture-recapture method. *Mult Scler*, 18(3), 372-376.

Filippi, M. (2015). MRI measures of neurodegeneration in multiple sclerosis: implications for disability, disease monitoring, and treatment. *J Neurol*, 262(1), 1-6.

Filippi, M., Bar-Or, A., Piehl, F., Preziosa, P., Solari, A., Vukusic, S., & Rocca, M. A. (2018). Multiple sclerosis. *Nat Rev Dis Primers*, 4(1), 43.

Filippi, M., Preziosa, P., Meani, A., Ciccarelli, O., Mesaros, S., Rovira, A., . . . Rocca, M. A. (2018). Prediction of a multiple sclerosis diagnosis in patients with clinically isolated syndrome using the 2016 MAGNIMS and 2010 McDonald criteria: a retrospective study. *Lancet Neurol*, 17(2), 133-142.

Filippini, G., Del Giovane, C., Vacchi, L., D'Amico, R., Di Pietrantonj, C., Beecher, D., & Salanti, G. (2013). Immunomodulators and immunosuppressants for multiple sclerosis: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev*(6), CD008933.

Fischer, M., Kunkel, A., Bublak, P., Faiss, J. H., Hoffmann, F., Sailer, M., . . . Kohler, W. (2014). How reliable is the classification of cognitive impairment across different criteria in early and late stages of multiple sclerosis? *J Neurol Sci*, 343(1-2), 91-99.

Fleisher, A. S., Chen, K., Quiroz, Y. T., Jakimovich, L. J., Gomez, M. G.,

Langois, C. M., . . . Reiman, E. M. (2012). Florbetapir PET analysis of amyloid-beta deposition in the presenilin 1 E280A autosomal dominant Alzheimer's disease kindred: a cross-sectional study. *Lancet Neurol*, 11(12), 1057-1065.

Frerichs, F. T. (1849). Ueber hirnsklerose. *Arch Ges Med*, 10, 334-350. Friesse, M. A., Schattling, B., & Fugger, L. (2014). Mechanisms of neurodegeneration and axonal dysfunction in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol*, 10(4), 225-238.

Frohman, E. M., Racke, M. K., & Raine, C. S. (2006). Multiple sclerosis—the plaque and its pathogenesis. *N Engl J Med*, 354(9), 942-955.

Giannetti, P., Politis, M., Su, P., Turkheimer, F. E., Malik, O., Keihaninejad, S., . . . Piccini, P. (2015). Increased PK11195-PET binding in normal-appearing white matter in clinically isolated syndrome. *Brain*, 138(Pt 1), 110-119.

Glenner, G. G. (1980a). Amyloid deposits and amyloidosis. The beta-fibrilloses (first of two parts). *N Engl J Med*, 302(23), 1283-1292.

Glenner, G. G. (1980b). Amyloid deposits and amyloidosis: the beta-fibrilloses (second of two parts). *N Engl J Med*, 302(24), 1333-1343.

Golden, C. J., Espe-Pfeifer, P., & Wachsler-Felder, J. (2000). Neuropsychological interpretation of objective psychological tests: Springer Science & Business Media.

Golden, C. J., & Freshwater, S. M. (1978). *Stroop color and word test*.

Goodheart, A. E., Tamburo, E., Minhas, D., Aizenstein, H. J., McDade, E., Snitz, B. E., . . . Cohen, A. D. (2015). Reduced binding of Pittsburgh Compound-B in areas of white matter hyperintensities. *Neuroimage Clin*, 9, 479-483.

Goodin, D. S., Khankhanian, P., Gourraud, P. A., & Vince, N. (2018). Highly conserved extended haplotypes of the major histocompatibility complex and their relationship to multiple sclerosis susceptibility. *PLoS One*, 13(2), e0190043.

Goodkin, D. E. (1991). EDSS reliability. *Neurology*, 41(2 (Pt 1)), 332.

Gourraud, P. A., McElroy, J. P., Caillier, S. J., Johnson, B. A., Santaniello, A., Hauser, S. L., & Oksenberg, J. R. (2011). Aggregation of multiple sclerosis genetic risk variants in multiple and single case families. *Ann Neurol*, 69(1), 65-74.

Gregory, S. G., Schmidt, S., Seth, P., Oksenberg, J. R., Hart, J., Prokop, A., . . . Multiple Sclerosis Genetics, G. (2007). Interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) shows allelic and functional association with multiple sclerosis. *Nat Genet*, 39(9), 1083-1091.

Gronwall, D. M. (1977). Paced auditory serial-addition task: a measure of recovery from concussion. *Percept Mot Skills*, 44(2), 367-373. Guimaraes, J., & Sa, M. J. (2012). Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Front Neurol*, 3, 74.

Hagens, M. H. J., Golla, S. V., Wijburg, M. T., Yaqub, M., Heijtel, D., Steenwijk, M. D., . . . Lammertsma, A. A. (2018). In vivo assessment of neuroinflammation in progressive multiple sclerosis: a proof of concept study with [(18)F]DPA714 PET. *J Neuroinflammation*, 15(1), 314.

Hanken, K., Eling, P., & Hildebrandt, H. (2015). Is there a cognitive signature for MS-related fatigue? *Mult Scler*, 21(4), 376-381.

Harada, R., Okamura, N., Furumoto, S., & Yanai, K. (2018). Imaging Pro-

tein Misfolding in the Brain Using beta-Sheet Ligands. *Front Neurosci*, 12, 585.

Harirchian, M. H., Fatehi, F., Sarraf, P., Honarvar, N. M., & Bitarafan, S. (2018). Worldwide prevalence of familial multiple sclerosis: A systematic review and meta-analysis. *Mult Scler Relat Disord*, 20, 43-47.

Harrison, D. M., Roy, S., Oh, J., Izbudak, I., Pham, D., Courtney, S., . . . Calabresi, P. A. (2015). Association of Cortical Lesion Burden on 7-T Magnetic Resonance Imaging With Cognition and Disability in Multiple Sclerosis. *JAMA Neurol*, 72(9), 1004-1012.

Hartley, M. D., Altowaijri, G., & Bourdette, D. (2014). Remyelination and multiple sclerosis: therapeutic approaches and challenges. *Curr Neurol Neurosci Rep*, 14(10), 485.

Hauser, S. L., & Oksenberg, J. R. (2006). The neurobiology of multiple sclerosis: genes, inflammation, and neurodegeneration. *Neuron*, 52(1), 61-76.

Havrdova, E., Galetta, S., Hutchinson, M., Stefoski, D., Bates, D., Polman, C. H., . . . Hyde, R. (2009). Effect of natalizumab on clinical and radiological disease activity in multiple sclerosis: a retrospective analysis of the Natalizumab Safety and Efficacy in Relapsing-Relmitting Multiple Sclerosis (AFFIRM) study. *Lancet Neurol*, 8(3), 254-260.

Heath, F., Hurley, S. A., Johansen-Berg, H., & Sampaio-Baptista, C. (2018). Advances in noninvasive myelin imaging. *Dev Neurobiol*, 78(2), 136-151.

Hegen, H., Bsteh, G., & Berger, T. (2018). 'No evidence of disease activity' - is it an appropriate surrogate in multiple sclerosis? *Eur J Neurol*, 25(9), 1107-

e1101.

Hemond, C. C., & Bakshi, R. (2018). Magnetic Resonance Imaging in Multiple Sclerosis. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 8(5).

Herholz, K., & Ebmeier, K. (2011). Clinical amyloid imaging in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol*, 10(7), 667-670.

Hildebrandt, H., & Eling, P. (2014). A longitudinal study on fatigue, depression, and their relation to neurocognition in multiple sclerosis. *J Clin Exp Neuropsychol*, 36(4), 410-417.

Hollenbach, J. A., & Oksenberg, J. R. (2015). The immunogenetics of multiple sclerosis: A comprehensive review. *J Autoimmun*, 64, 13-25.

Hulst, H. E., Steenwijk, M. D., Versteeg, A., Pouwels, P. J., Vrenken, H., Uitdehaag, B. M., . . . Barkhof, F. (2013). Cognitive impairment in MS: impact of white matter integrity, gray matter volume, and lesions. *Neurology*, 80(11), 1025-1032.

Ibujés, S., & Orlando, M. (2011). Coeficiente de correlación por rangos de Spearman. Retrieved from: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/768>

Ikonomic, M. D., Klunk, W. E., Abrahamson, E. E., Mathis, C. A., Price, J. C., Tsopelas, N. D., . . . DeKosky, S. T. (2008). Post-mortem correlates of in vivo PiB-PET amyloid imaging in a typical case of Alzheimer's disease. *Brain*, 131(Pt 6), 1630-1645.

Jenkinson, M., Bannister, P., Brady, M., & Smith, S. (2002). Improved optimization for the robust and accurate linear registration and motion correction of brain images. *Neuroimage*, 17(2), 825-841.

Jenkinson, M., & Smith, S. (2001). A global optimisation method for robust affine registration of brain images. *Med Image Anal*, 5(2), 143-156.

Kalheim, L. F., Fladby, T., Coello, C., Bjornerud, A., & Selnes, P. (2018). [18F]-Flutemetamol Uptake in Cortex and White Matter: Comparison with Cerebrospinal Fluid Biomarkers and [18F]-Fludeoxyglucose. *J Alzheimers Dis*, 62(4), 1595-1607.

Kaplan, E., Fein, D., Morris, R., & Delis, D. (1991). *Wais-r ni manual*. San Antonio, TX: Psychological Corporation.

Kaplan, E., Goodglass, H., & Weintraub, S. (2001). *The Boston Naming Test (2nd ed.)*. Philadelphia: PA: Lippincott Williams & Wilkins.

Kaskow, B. J., & Baecher-Allan, C. (2018). *Effector T Cells in Multiple Sclerosis*. Cold Spring Harb Perspect Med, 8(4).

Keegan, B. M., Kaufmann, T. J., Weinshenker, B. G., Kantarci, O. H., Schmalstieg, W. F., Paz Soldan, M. M., & Flanagan, E. P. (2018). Progressive motor impairment from a critically located lesion in highly restricted CNS-demyelinating disease. *Mult Scler*, 24(11), 1445-1452.

Kikuchi, A., Takeda, A., Okamura, N., Tashiro, M., Hasegawa, T., Furumoto, S., . . . Itoyama, Y. (2010). In vivo visualization of alpha-synuclein deposition by carbon-11-labelled 2-[2-(2-dimethylaminothiazol-5-yl)ethenyl]-6-[2—(fluoro)ethoxy]benzoxazole positron emission tomography in multiple system atrophy. *Brain*, 133(Pt 6), 1772-1778.

Kitz, A., Singer, E., & Hafler, D. (2018). Regulatory T Cells: From Discovery to Autoimmunity. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 8(12).

Koch-Henriksen, N., & Sorensen, P. S. (2010). The changing demographic pattern of multiple sclerosis epidemiology. *Lancet Neurol*, 9(5), 520-532.

Koch-Henriksen, N., & Sorensen, P. S. (2011). Why does the north-south gradient of incidence of multiple sclerosis seem to have disappeared on the northern hemisphere? *J Neurol Sci*, 311(1-2), 58-63.

Krieger, S. C., Cook, K., De Nino, S., & Fletcher, M. (2016). The topographical model of multiple sclerosis: A dynamic visualization of disease course. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*, 3(5), e279.

Krupp, L. B., LaRocca, N. G., Muir-Nash, J., & Steinberg, A. D. (1989). The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol*, 46(10), 1121-1123.

Kuhle, J., Disanto, G., Dobson, R., Aditya, R., Bianchi, L., Topping, J., . . . Giovannoni, G. (2015). Conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: A large multicentre study. *Mult Scler*, 21(8), 1013-1024.

Kuhlmann, T., Lingfeld, G., Bitsch, A., Schuchardt, J., & Bruck, W. (2002). Acute axonal damage in multiple sclerosis is most extensive in early disease stages and decreases over time. *Brain*, 125(Pt 10), 2202-2212.

Kujala, P., Portin, R., & Ruutiainen, J. (1997). The progress of cognitive decline in multiple sclerosis. A controlled 3-year follow-up. *Brain*, 120 (Pt 2), 289-297.

Kurtzke, J. F. (1975). A reassessment of the distribution of multiple sclerosis. Part one. *Acta Neurol Scand*, 51(2), 110-136.

Kurtzke, J. F. (1977). Geography in multiple sclerosis. *J Neurol*, 215(1),

1-26.

Kurtzke, J. F. (1980). Geographic distribution of multiple sclerosis: An update with special reference to Europe and the Mediterranean region. *Acta Neurol Scand*, 62(2), 65-80.

Kurtzke, J. F. (1983). Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*, 33(11), 1444-1452.

Kurtzke, J. F., Beebe, G. W., & Norman, J. E., Jr. (1979). Epidemiology of multiple sclerosis in U.S. veterans: 1. Race, sex, and geographic distribution. *Neurology*, 29(9 Pt 1), 1228-1235.

Kutzelnigg, A., & Lassmann, H. (2005). Cortical lesions and brain atrophy in MS. *J Neurol Sci*, 233(1-2), 55-59.

Kuwabara, H., Comley, R. A., Borroni, E., Honer, M., Kitmiller, K., Roberts, J., . . . Wong, D. F. (2018). Evaluation of (18)F-RO-948 PET for Quantitative Assessment of Tau Accumulation in the Human Brain. *J Nucl Med*, 59(12), 1877-1884.

Langdon, D. W., Amato, M. P., Boringa, J., Brochet, B., Foley, F., Fredrikson, S., . . . Benedict, R. H. (2012). Recommendations for a Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis (BICAMS). *Mult Scler*, 18(6), 891-898.

Lassmann, H. (2018). Multiple Sclerosis Pathology. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 8(3).

Lassmann, H., Bruck, W., & Lucchinetti, C. F. (2007). The immunopathology of multiple sclerosis: an overview. *Brain Pathol*, 17(2), 210-218.

Li, R., Patterson, K. R., & Bar-Or, A. (2018). Reassessing B cell contributions in multiple sclerosis. *Nat Immunol*, 19(7), 696-707.

Lincoln, M. R., Montpetit, A., Cader, M. Z., Saarela, J., Dyment, D. A., Tiislar, M., . . . Hudson, T. J. (2005). A predominant role for the HLA class II region in the association of the MHC region with multiple sclerosis. *Nat Genet*, 37(10), 1108-1112.

Lopes Costa, S., Goncalves, O. F., DeLuca, J., Chiaravalloti, N., Chakravarthi, R., & Almeida, J. (2016). The Temporal Dynamics of Visual Processing in Multiple Sclerosis. *Appl Neuropsychol Adult*, 23(2), 133-140.

Lu, G., Beadnall, H. N., Barton, J., Hardy, T. A., Wang, C., & Barnett, M. H. (2018). The evolution of "No Evidence of Disease Activity" in multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*, 20, 231-238.

Lublin, F., Miller, D. H., Freedman, M. S., Cree, B. A. C., Wolinsky, J. S., Weiner, H., . . . investigators, I. s. (2016). Oral fingolimod in primary progressive multiple sclerosis (INFORMS): a phase 3, randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 387(10023), 1075-1084.

Lublin, F. D., Reingold, S. C., Cohen, J. A., Cutter, G. R., Sorensen, P. S., Thompson, A. J., . . . Polman, C. H. (2014). Defining the clinical course of multiple sclerosis: the 2013 revisions. *Neurology*, 83(3), 278-286.

Lunde, H. M. B., Assmus, J., Myhr, K. M., Bo, L., & Grytten, N. (2017). Survival and cause of death in multiple sclerosis: a 60-year longitudinal population study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 88(8), 621-625.

Lundmark, F., Duvefelt, K., Iacobaeus, E., Kockum, I., Wallstrom, E., Kha-

demi, M., . . . Hillert, J. (2007). Variation in interleukin 7 receptor alpha chain (IL7R) influences risk of multiple sclerosis. *Nat Genet*, 39(9), 1108-1113.

Lycke, J., & Zetterberg, H. (2017). The role of blood and CSF biomarkers in the evaluation of new treatments against multiple sclerosis. *Expert Rev Clin Immunol*, 13(12), 1143-1153.

Mahad, D. H., Trapp, B. D., & Lassmann, H. (2015). Pathological mechanisms in progressive multiple sclerosis. *Lancet Neurol*, 14(2), 183-193.

Martí-Climent, J. M., Prieto, E., Lafuente, J. L., & Arbizu, J. (2010). Neuroimagen: Fundamentos técnicos y prácticos. *Revista Española de Medicina Nuclear*, 29(4), 189-210.

Masdeu, J., Arbizu, J., Toledo, J., & Valero, M. (2006). SPECT y PET en neurología. *Neurología*, 21(5), 219-225.

Matías-Guiu, J., Bolumar, F., Martín, R., Insa, R., Casquero, P., Molto, J. M., . . . Aranaz, J. (1990). Multiple sclerosis in Spain: an epidemiological study of the Alcoy health region, Valencia. *Acta Neurol Scand*, 81(6), 479-483.

Matías-Guiu, J., Gómez-Pinedo, U., & Matías-Guiu, J. A. (2017). News in multiple sclerosis: Remyelination as a therapeutic target. *Med Clin (Barc)*, 148(8), 377-380.

Matías-Guiu, J., Molto, J. M., Martín, R., Falip, R., Bolumar, J., & Insa, R. (1990). MS prevalence in Spain. *Neurology*, 40(4), 726.

Matías-Guiu, J. A., Cabrera-Martín, M. N., Cortés-Martínez, A., Pytel, V., Moreno-Ramos, T., Oreja-Guevara, C., . . . Matías-Guiu, J. (2017). Amyloid PET in pseudotumoral multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*, 15, 15-17.

Matías-Guiu, J. A., Cabrera-Martín, M. N., Matías-Guiu, J., Oreja-Guevara, C., Riola-Parada, C., Moreno-Ramos, T., . . . Carreras, J. L. (2015). Amyloid PET imaging in multiple sclerosis: an (18)F-florbetaben study. *BMC Neurol*, 15, 243.

Matías-Guiu, J. A., Cabrera-Martín, M. N., Oreja-Guevara, C., Carreras, J. L., & Matías-Guiu, J. (2016). Pittsburgh compound B and other amyloid positron emission tomography tracers for the study of white matter and multiple sclerosis. *Ann Neurol*, 80(1), 166.

Matías-Guiu, J. A., Cabrera-Martín, M. N., Valles-Salgado, M., Perez-Perez, A., Rognoni, T., Moreno-Ramos, T., . . . Matías-Guiu, J. (2017). Neural Basis of Cognitive Assessment in Alzheimer Disease, Amnestic Mild Cognitive Impairment, and Subjective Memory Complaints. *Am J Geriatr Psychiatry*, 25(7), 730-740.

Matías-Guiu, J. A., Cortés-Martínez, A., Montero, P., Pytel, V., Moreno-Ramos, T., Jorquera, M., . . . Matías-Guiu, J. (2018a). Identification of Cortical and Subcortical Correlates of Cognitive Performance in Multiple Sclerosis Using Voxel-Based Morphometry. *Front Neurol*, 9, 920.

Matías-Guiu, J. A., Cortés-Martínez, A., Montero, P., Pytel, V., Moreno-Ramos, T., Jorquera, M., . . . Matías-Guiu, J. (2018b). Structural MRI correlates of PASAT performance in multiple sclerosis. *BMC Neurol*, 18(1), 214.

Matías-Guiu, J. A., Cortés-Martínez, A., Valles-Salgado, M., Oreja-Guevara, C., Pytel, V., Montero, P., . . . Matías-Guiu, J. (2017). Functional Components of Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis: A Cross-Sectional Investigation. *Front Neurol*, 8, 643.

Matías-Guiu, J. A., Guerrero-Marquez, C., Cabrera-Martín, M. N., Gomez-Pinedo, U., Romeral, M., Mayo, D., . . . Matías-Guiu, J. (2017). Amyloid- and FDG-PET in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: Correlation with pathological prion protein in neuropathology. *Prion*, 11(3), 205-213.

Matías-Guiu, J. A., Oreja-Guevara, C., Cabrera-Martín, M. N., Moreno-Ramos, T., Carreras, J. L., & Matías-Guiu, J. (2016). Amyloid Proteins and Their Role in Multiple Sclerosis. Considerations in the Use of Amyloid-PET Imaging. *Front Neurol*, 7, 53.

Matías-Guiu, J. A., Pytel, V., Cabrera-Martín, M. N., Galan, L., Valles-Salgado, M., Guerrero, A., . . . Carreras, J. L. (2016). Amyloid- and FDG-PET imaging in amyotrophic lateral sclerosis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 43(11), 2050-2060.

Matthews, P. M., & Datta, G. (2015). Positron-emission tomography molecular imaging of glia and myelin in drug discovery for multiple sclerosis. *Expert Opin Drug Discov*, 10(5), 557-570.

Matías-Guiu, J.A., Gómez-Pinedo, U., Pytel V., Cabrera-Martín, M., Moreno-Ramos, T., Matías-Guiu, J. (2019). Amyloid PET in multiple sclerosis: association between myelin damage and changes in the amyloid cascade, and potential prognostic implications. *Int. J. Mol. Sci.* Manuscript submitted for publication

Mazdeh, M., Hosseini, S., Taheri, M., & Ghafouri-Fard, S. (2018). The effect of natalizumab on disability score and relapse rate of multiple sclerosis patients: a prospective cohort study. *Clin Transl Med*, 7(1), 38.

McDonald, W. I., Compston, A., Edan, G., Goodkin, D., Hartung, H. P., Lublin, F. D., . . . Wolinsky, J. S. (2001). Recommended diagnostic criteria for

multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol*, 50(1), 121-127.

Megna, R., Alfano, B., Lanzillo, R., Costabile, T., Comerci, M., Vacca, G., . . . Quarantelli, M. (2018). Brain tissue volumes and relaxation rates in multiple sclerosis: implications for cognitive impairment. *J Neurol*, 266(2):361-368.

Miller, D. H., Barkhof, F., Frank, J. A., Parker, G. J., & Thompson, A. J. (2002). Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain*, 125(Pt 8), 1676-1695.

Miller, D. H., Chard, D. T., & Ciccarelli, O. (2012). Clinically isolated syndromes. *Lancet Neurol*, 11(2), 157-169.

Minagar, A., & Alexander, J. S. (2003). Blood-brain barrier disruption in multiple sclerosis. *Mult Scler*, 9(6), 540-549.

Mistry, N., Tallantyre, E. C., Dixon, J. E., Galazis, N., Jaspan, T., Morgan, P. S., . . . Evangelou, N. (2011). Focal multiple sclerosis lesions abound in 'normal appearing white matter'. *Mult Scler*, 17(11), 1313-1323.

Moll, N. M., Rietsch, A. M., Thomas, S., Ransohoff, A. J., Lee, J. C., Fox, R., . . . Fisher, E. (2011). Multiple sclerosis normal-appearing white matter: pathology-imaging correlations. *Ann Neurol*, 70(5), 764-773.

Mosconi, L., Rinne, J. O., Tsui, W. H., Murray, J., Li, Y., Glodzik, L., . . . de Leon, M. J. (2013). Amyloid and metabolic positron emission tomography imaging of cognitively normal adults with Alzheimer's parents. *Neurobiol Aging*, 34(1), 22-34.

Mowry, E. M., Pesic, M., Grimes, B., Deen, S. R., Bacchetti, P., & Waubant,

E. (2009). Clinical predictors of early second event in patients with clinically isolated syndrome. *J Neurol*, 256(7), 1061-1066.

Multiple Sclerosis International Federation (2013). Atlas of MS 2013. Retrieved from <http://www.msif.org/wp-content/uploads/2014/09/Atlas-of-MS.pdf>.

Nakamura, Y., Gaetano, L., Matsushita, T., Anna, A., Sprenger, T., Radue, E. W., . . . Kira, J. I. (2018). A comparison of brain magnetic resonance imaging lesions in multiple sclerosis by race with reference to disability progression. *J Neuroinflammation*, 15(1), 255.

Namdar, A., Nikbin, B., Ghabaee, M., Bayati, A., & Izad, M. (2010). Effect of IFN-beta therapy on the frequency and function of CD4(+)CD25(+) regulatory T cells and Foxp3 gene expression in relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS): a preliminary study. *J Neuroimmunol*, 218(1-2), 120-124.

Niccolini, F., Su, P., & Politis, M. (2015). PET in multiple sclerosis. *Clin Nucl Med*, 40(1), e46-52.

Nielsen, A. S., Kinkel, R. P., Madigan, N., Tinelli, E., Benner, T., & Mainero, C. (2013). Contribution of cortical lesion subtypes at 7T MRI to physical and cognitive performance in MS. *Neurology*, 81(7), 641-649.

Nocentini, U., Pasqualetti, P., Bonavita, S., Buccafusca, M., De Caro, M. F., Farina, D., . . . Caltagirone, C. (2006). Cognitive dysfunction in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Mult Scler*, 12(1), 77-87.

Offenbacher, H., Fazekas, F., Schmidt, R., Freidl, W., Flooh, E., Payer, F., & Lechner, H. (1993). Assessment of MRI criteria for a diagnosis of MS. *Neurology*, 43(5), 905-909.

Oksenberg, J. R., Baranzini, S. E., Sawcer, S., & Hauser, S. L. (2008). The genetics of multiple sclerosis: SNPs to pathways to pathogenesis. *Nat Rev Genet*, 9(7), 516-526.

Ollivier, C.-P. (1824). *De la moelle epiniere et de ses maladies*: Crevot.

Oreja-Guevara, C., Gómez-Pinedo, U., García-Lopez, J., Sánchez-Sánchez, R., Valverde-Moyano, R., Rábano-Gutiérrez, A., . . . Matías-Guiu, J. (2017). Inhibition of neurogenesis in a case of Marburg variant multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*, 18, 71-76.

Ortiz, G. G., Pacheco-Moises, F. P., Macías-Islas, M. A., Flores-Alvarado, L. J., Mireles-Ramírez, M. A., González-Renovato, E. D., . . . Alatorre-Jimenez, M. A. (2014). Role of the blood-brain barrier in multiple sclerosis. *Arch Med Res*, 45(8), 687-697.

Osterrieth, P. A. (1944). Le test de copie d'une figure complexe; contribution à l'étude de la perception et de la mémoire. *Archives de psychologie*, 15;144(2-3):109-16.

Pardini, M., Bonzano, L., Bergamino, M., Bommarito, G., Feraco, P., Murugavel, A., . . . Roccatagliata, L. (2015). Cingulum bundle alterations underlie subjective fatigue in multiple sclerosis. *Mult Scler*, 21(4), 442-447.

Park, E., Gallezot, J. D., Delgadillo, A., Liu, S., Planeta, B., Lin, S. F., . . . Pelletier, D. (2015). (11)C-PBR28 imaging in multiple sclerosis patients and healthy controls: test-retest reproducibility and focal visualization of active white matter areas. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 42(7), 1081-1092.

Partington, J. E., & Leiter, R. G. (1949). *Partington's Pathways Test*. Psy-

chological Service Center Journal.

Passamonti, L., Rodriguez, P. V., Hong, Y. T., Allinson, K. S. J., Bevan-Jones, W. R., Williamson, D., . . . Rowe, J. B. (2018). [(11)C]PK11195 binding in Alzheimer disease and progressive supranuclear palsy. *Neurology*, 90(22), e1989-e1996.

Patenaude, B., Smith, S. M., Kennedy, D. N., & Jenkinson, M. (2011). A Bayesian model of shape and appearance for subcortical brain segmentation. *Neuroimage*, 56(3), 907-922.

Pearce, J. M. (2002). Edme Felix Alfred Vulpian (1826-1887). *J Neurol*, 249(12), 1749-1750.

Pena-Casanova, J., Blesa, R., Aguilar, M., Gramunt-Fombuena, N., Gomez-Anson, B., Oliva, R., . . . Team, N. S. (2009). Spanish Multicenter Normative Studies (NEURONORMA Project): methods and sample characteristics. *Arch Clin Neuropsychol*, 24(4), 307-319.

Pena-Casanova, J., Casals-Coll, M., Quintana, M., Sanchez-Benavides, G., Rognoni, T., Calvo, L., . . . Manero, R. M. (2012). [Spanish normative studies in a young adult population (NEURONORMA young adults Project): methods and characteristics of the sample]. *Neurología*, 27(5), 253-260.

Petrova, N., Carassiti, D., Altmann, D. R., Baker, D., & Schmierer, K. (2018). Axonal loss in the multiple sclerosis spinal cord revisited. *Brain Pathol*, 28(3), 334-348.

Peña-Casanova, J. (2005). *Programa integrado de exploración neuropsicológica: Test Barcelona*. Elsevier España.

Pietroboni, A. M., Carandini, T., Colombi, A., Mercurio, M., Ghezzi, L., Giuliotti, G., . . . Marotta, G. (2018). Amyloid PET as a marker of normal-appearing white matter early damage in multiple sclerosis: correlation with CSF beta-amyloid levels and brain volumes. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*.

Pietroboni, A. M., Schiano di Cola, F., Scarioni, M., Fenoglio, C., Spano, B., Arighi, A., . . . Scarpini, E. (2017). CSF beta-amyloid as a putative biomarker of disease progression in multiple sclerosis. *Mult Scler*, 23(8), 1085-1091.

Planche, V., Gibelin, M., Cregut, D., Pereira, B., & Clavelou, P. (2016). Cognitive impairment in a population-based study of patients with multiple sclerosis: differences between late relapsing-remitting, secondary progressive and primary progressive multiple sclerosis. *Eur J Neurol*, 23(2), 282-289.

Plemel, J. R., Liu, W. Q., & Yong, V. W. (2017). Remyelination therapies: a new direction and challenge in multiple sclerosis. *Nat Rev Drug Discov*, 16(9), 617-634.

Politis, M., Giannetti, P., Su, P., Turkheimer, F., Keihaninejad, S., Wu, K., . . . Piccini, P. (2012). Increased PK11195 PET binding in the cortex of patients with MS correlates with disability. *Neurology*, 79(6), 523-530.

Polman, C. H., Reingold, S. C., Banwell, B., Clanet, M., Cohen, J. A., Filippi, M., . . . Wolinsky, J. S. (2011). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol*, 69(2), 292-302.

Polman, C. H., Reingold, S. C., Edan, G., Filippi, M., Hartung, H. P., Kappos, L., . . . Wolinsky, J. S. (2005). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol*, 58(6), 840-846.

Poser, C. M., Paty, D. W., Scheinberg, L., McDonald, W. I., Davis, F. A., Ebers, G. C., . . . Tourtellotte, W. W. (1983). New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol*, 13(3), 227-231.

Prestia, A., Caroli, A., van der Flier, W. M., Ossenkoppele, R., Van Berckel, B., Barkhof, F., . . . Frisoni, G. B. (2013). Prediction of dementia in MCI patients based on core diagnostic markers for Alzheimer disease. *Neurology*, 80(11), 1048-1056.

Prineas, J. W., Kwon, E. E., Cho, E. S., Sharer, L. R., Barnett, M. H., Oleszak, E. L., . . . Morgan, B. P. (2001). Immunopathology of secondary-progressive multiple sclerosis. *Ann Neurol*, 50(5), 646-657.

Pytel, V., Matías-Guiu, J. A., Torre-Fuentes, L., Montero, P., Gomez-Grana, A., García-Ramos, R., . . . Matías-Guiu, J. (2018). Familial multiple sclerosis and association with other autoimmune diseases. *Brain Behav*, 8(1), e00899.

Quinones-Ubeda, S., Peña-Casanova, J., Bohm, P., Gramunt-Fombuena, N., & Comas, L. (2004). [Preliminary normative data for the second edition of the Boston Naming Test for young Spanish adults]. *Neurología*, 19(5), 248-253.

Rae-Grant, A., Day, G. S., Marrie, R. A., Rabinstein, A., Cree, B. A. C., Gronseth, G. S., . . . Pringsheim, T. (2018). Practice guideline recommendations summary: Disease-modifying therapies for adults with multiple sclerosis: Report of the Guideline Development, Dissemination, and Implementation Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology*, 90(17), 777-788.

Rahn, A. C., Kopke, S., Stellmann, J. P., Schiffmann, I., Lukas, C., Chard, D., & Heesen, C. (2019). Magnetic resonance imaging as a prognostic disabi-

lity marker in clinically isolated syndrome: A systematic review. *Acta Neurol Scand*, 139(1), 18-32.

Ramier, A. (1970). Role respectif des atteintes frontales et de la lateralisation lésionnelle dans les déficits de la fluence verbale'. *Rev neurol*, 123, 17-22.

Rao, S. (1991). *A Manual for the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests in Multiple Sclerosis*. National Multiple Sclerosis Society.

Reitan, R., & Wolfson, D. (1993). *The Halstead-Reitan neuropsychological test battery: Theory and clinical applications*. 2nd Edition. Neuropsychology Press.

Renauld, S., Mohamed-Said, L., & Macoir, J. (2016). Language disorders in multiple sclerosis: A systematic review. *Mult Scler Relat Disord*, 10, 103-111.

Rey, A. (1941). *L'examen psychologique dans les cas d'encéphalopathie traumatique. (Les problèmes.)*. Archives de psychologie.

Riccitelli, G., Rocca, M. A., Forn, C., Colombo, B., Comi, G., & Filippi, M. (2011). Voxelwise assessment of the regional distribution of damage in the brains of patients with multiple sclerosis and fatigue. *AJNR Am J Neuroradiol*, 32(5), 874-879.

Rissanen, E., Tuisku, J., Rokka, J., Paavilainen, T., Parkkola, R., Rinne, J. O., & Airas, L. (2014). In Vivo Detection of Diffuse Inflammation in Secondary Progressive Multiple Sclerosis Using PET Imaging and the Radioligand (1)(1)C-PK11195. *J Nucl Med*, 55(6), 939-944.

Robertson, N. P., O'Riordan, J. I., Chataway, J., Kingsley, D. P., Miller, D. H., Clayton, D., & Compston, D. A. (1997). Offspring recurrence rates and cli-

nical characteristics of conjugal multiple sclerosis. *Lancet*, 349(9065), 1587-1590.

Rojas, J. I., Murphy, G., Sanchez, F., Patrucco, L., Fernandez, M. C., Míguez, J., . . . Cristiano, E. (2018). Thalamus volume change and cognitive impairment in early relapsing-remitting multiple sclerosis patients. *Neuroradiol J*, 31(4), 350-355.

Roosendaal, S. D., Moraal, B., Pouwels, P. J., Vrenken, H., Castelijns, J. A., Barkhof, F., & Geurts, J. J. (2009). Accumulation of cortical lesions in MS: relation with cognitive impairment. *Mult Scler*, 15(6), 708-714.

Rosati, G. (2001). The prevalence of multiple sclerosis in the world: an update. *Neurol Sci*, 22(2), 117-139.

Rover, C., Nicholas, R., Straube, S., & Friede, T. (2015). Changing EDSS Progression in Placebo Cohorts in Relapsing MS: A Systematic Review and Meta-Regression. *PLoS One*, 10(9), e0137052.

Rovira, A. (2001). Resonancia magnética en el diagnostic de la esclerosis multiple. *Radiología*, 43(10), 465-477.

Ruet, A., Deloire, M., Charre-Morin, J., Hamel, D., & Brochet, B. (2013). Cognitive impairment differs between primary progressive and relapsing-remitting MS. *Neurology*, 80(16), 1501-1508.

Sabri, O., Seibyl, J., Rowe, C., & Barthel, H. (2015). Beta-amyloid imaging with florbetaben. *Clin Transl Imaging*, 3(1), 13-26.

Sadaba, M. C., Tzartos, J., Paino, C., Garcia-Villanueva, M., Alvarez-Cermenó, J. C., Villar, L. M., & Esiri, M. M. (2012). Axonal and oligodendrocyte-localized

IgM and IgG deposits in MS lesions. *J Neuroimmunol*, 247(1-2), 86-94.

Santangelo, G., Bisecco, A., Trojano, L., Sacco, R., Siciliano, M., d'Ámbrosio, A., . . . Gallo, A. (2018). Cognitive performance in multiple sclerosis: the contribution of intellectual enrichment and brain MRI measures. *J Neurol*, 265(8), 1772-1779.

Scalfari, A., Knappertz, V., Cutter, G., Goodin, D. S., Ashton, R., & Ebers, G. C. (2013). Mortality in patients with multiple sclerosis. *Neurology*, 81(2), 184-192.

Schmidt, P., Gaser, C., Arsic, M., Buck, D., Forschler, A., Berthele, A., . . . Muhlau, M. (2012). An automated tool for detection of FLAIR-hyperintense white-matter lesions in Multiple Sclerosis. *Neuroimage*, 59(4), 3774-3783.

Schuitemaker, A., Kropholler, M. A., Boellaard, R., van der Flier, W. M., Kloet, R. W., van der Doef, T. F., . . . van Berckel, B. N. (2013). Microglial activation in Alzheimer's disease: an (R)-[(1)(1)C]PK11195 positron emission tomography study. *Neurobiol Aging*, 34(1), 128-136.

Sellebjerg, F., Royen, L., Soelberg Sorensen, P., Oturai, A. B., & Jensen, P. E. H. (2018). Prognostic value of cerebrospinal fluid neurofilament light chain and chitinase-3-like-1 in newly diagnosed patients with multiple sclerosis. *Mult Scler*, 1352458518794308.

Silverman, D. H. (2004). Brain 18F-FDG PET in the diagnosis of neurodegenerative dementias: comparison with perfusion SPECT and with clinical evaluations lacking nuclear imaging. *J Nucl Med*, 45(4), 594-607.

Simpson, S., Jr., Blizzard, L., Otahal, P., Van der Mei, I., & Taylor, B. (2011).

Latitude is significantly associated with the prevalence of multiple sclerosis: a meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 82(10), 1132-1141.

Simpson, S., Jr., Tan, H., Otahal, P., Taylor, B., Ponsonby, A. L., Lucas, R. M., . . . van der Mei, I. (2016). Anxiety, depression and fatigue at 5-year review following CNS demyelination. *Acta Neurol Scand*, 134(6), 403-413.

Skokou, M., Soubasi, E., & Gourzis, P. (2012). Depression in multiple sclerosis: a review of assessment and treatment approaches in adult and pediatric populations. *ISRN Neurol*, 2012, 427102.

Smith, A. (1973). *Symbol Digit Modalities Test Manual*: Los Angeles: Western Psychological Services.

Smith, A. L., Cohen, J. A., & Hua, L. H. (2017). Therapeutic Targets for Multiple Sclerosis: Current Treatment Goals and Future Directions. *Neurotherapeutics*, 14(4), 952-960.

Smith, S. M., Jenkinson, M., Woolrich, M. W., Beckmann, C. F., Behrens, T. E., Johansen-Berg, H., . . . Matthews, P. M. (2004). Advances in functional and structural MR image analysis and implementation as FSL. *Neuroimage*, 23 Suppl 1, S208-219.

Smith, S. M., Zhang, Y., Jenkinson, M., Chen, J., Matthews, P. M., Federico, A., & De Stefano, N. (2002). Accurate, robust, and automated longitudinal and cross-sectional brain change analysis. *Neuroimage*, 17(1), 479-489.

Sospedra, M., & Martin, R. (2005). Immunology of multiple sclerosis. *Annu Rev Immunol*, 23, 683-747.

Stangel, M., Penner, I. K., Kallmann, B. A., Lukas, C., & Kieseier, B. C.

(2015). Towards the implementation of no evidence of disease activity in multiple sclerosis treatment: the multiple sclerosis decision model. *Ther Adv Neurol Disord*, 8(1), 3-13.

Stankoff, B., Freeman, L., Aigrot, M. S., Chardain, A., Dolle, F., Williams, A., . . . Bottlaender, M. (2011). Imaging central nervous system myelin by positron emission tomography in multiple sclerosis using [methyl-(1)(1)C]-2-(4'-methylaminophenyl)-6-hydroxybenzothiazole. *Ann Neurol*, 69(4), 673-680.

Stilund, M., Gjelstrup, M. C., Petersen, T., Moller, H. J., Rasmussen, P. V., & Christensen, T. (2015). Biomarkers of inflammation and axonal degeneration/damage in patients with newly diagnosed multiple sclerosis: contributions of the soluble CD163 CSF/serum ratio to a biomarker panel. *PLoS One*, 10(4), e0119681.

Stroop, J. R. (1935). Studies of interference in serial verbal reactions. *Journal of experimental psychology*, 18(6), 643.

Sumowski, J. F., Benedict, R., Enzinger, C., Filippi, M., Geurts, J. J., Hamalainen, P., . . . Rao, S. (2018). Cognition in multiple sclerosis: State of the field and priorities for the future. *Neurology*, 90(6), 278-288.

Sumowski, J. F., Chiaravalloti, N., Wylie, G., & Deluca, J. (2009). Cognitive reserve moderates the negative effect of brain atrophy on cognitive efficiency in multiple sclerosis. *J Int Neuropsychol Soc*, 15(4), 606-612.

Sundaram, G. S., Dhavale, D., Prior, J. L., Sivapackiam, J., Laforest, R., Kotzbauer, P., & Sharma, V. (2015). Synthesis, characterization, and preclinical validation of a PET radiopharmaceutical for interrogating Abeta (beta-amyloid) plaques in Alzheimer's disease. *EJNMMI Res*, 5(1), 112.

Tam, R. C., Traboulsee, A., Riddehough, A., Sheikhzadeh, F., & Li, D. K. (2011). The impact of intensity variations in T1-hypointense lesions on clinical correlations in multiple sclerosis. *Mult Scler*, 17(8), 949-957.

Tan, M. S., Jiang, T., Tan, L., & Yu, J. T. (2014). Genome-wide association studies in neurology. *Ann Transl Med*, 2(12), 124.

Tas, M. W., Barkhol, F., van Walderveen, M. A., Polman, C. H., Hommes, O. R., & Valk, J. (1995). The effect of gadolinium on the sensitivity and specificity of MR in the initial diagnosis of multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol*, 16(2), 259-264.

Thompson, A. J., Banwell, B. L., Barkhof, F., Carroll, W. M., Coetzee, T., Comi, G., . . . Cohen, J. A. (2018). Diagnosis of multiple sclerosis: 2017 revisions of the McDonald criteria. *Lancet Neurol*, 17(2), 162-173.

Thompson, A. J., Baranzini, S. E., Geurts, J., Hemmer, B., & Ciccarelli, O. (2018). Multiple sclerosis. *Lancet*, 391(10130), 1622-1636.

Tintore, M., Rovira, A., Rio, J., Otero-Romero, S., Arrambide, G., Tur, C., . . . Montalban, X. (2015). Defining high, medium and low impact prognostic factors for developing multiple sclerosis. *Brain*, 138(Pt 7), 1863-1874.

Tombaugh, T. N. (2006). A comprehensive review of the Paced Auditory Serial Addition Test (PASAT). *Arch Clin Neuropsychol*, 21(1), 53-76.

Torre-Fuentes, L., Moreno-Jiménez, L., Pytel, V., Matías-Guiu, J. A., Gómez-Pinedo, U., & Matías-Guiu, J. (2017). Experimental models of demyelination and remyelination. *Neurología*.

Traherne, J. A. (2008). Human MHC architecture and evolution: implica-

tions for disease association studies. *Int J Immunogenet*, 35(3), 179-192.

Trentini, A., Comabella, M., Tintore, M., Koel-Simmelink, M. J., Killestein, J., Roos, B., . . . Teunissen, C. E. (2014). N-acetylaspartate and neurofilaments as biomarkers of axonal damage in patients with progressive forms of multiple sclerosis. *J Neurol*, 261(12), 2338-2343.

Tzourio-Mazoyer, N., Landeau, B., Papathanassiou, D., Crivello, F., Etard, O., Delcroix, N., . . . Joliot, M. (2002). Automated anatomical labeling of activations in SPM using a macroscopic anatomical parcellation of the MNI MRI single-subject brain. *Neuroimage*, 15(1), 273-289.

Uitdehaag, B. M. J. (2018). *Disability Outcome Measures in Phase III Clinical Trials in Multiple Sclerosis*. CNS Drugs.

University of California, S. F. M. S. E. T., Cree, B. A., Gourraud, P. A., Oksenberg, J. R., Bevan, C., Crabtree-Hartman, E., . . . Hauser, S. L. (2016). Long-term evolution of multiple sclerosis disability in the treatment era. *Ann Neurol*, 80(4), 499-510.

van Kessel, K., & Moss-Morris, R. (2006). Understanding multiple sclerosis fatigue: a synthesis of biological and psychological factors. *J Psychosom Res*, 61(5), 583-585.

Van Schependom, J., D'Hooghe M, B., Cleynhens, K., D'Hooge, M., Haelewyck, M. C., De Keyser, J., & Nagels, G. (2014). The Symbol Digit Modalities Test as sentinel test for cognitive impairment in multiple sclerosis. *Eur J Neurol*, 21(9), 1219-1225, e1271-1212.

Van Schependom, J., D'Hooghe M, B., Cleynhens, K., D'Hooge, M., Hae-

lewyck, M. C., De Keyser, J., & Nagels, G. (2015). Reduced information processing speed as primum movens for cognitive decline in MS. *Mult Scler*, 21(1), 83-91.

Veronese, M., Bodini, B., Garcia-Lorenzo, D., Battaglini, M., Bongarzone, S., Comtat, C., . . . Turkheimer, F. E. (2015). Quantification of [(11)C]PIB PET for imaging myelin in the human brain: a test-retest reproducibility study in high-resolution research tomography. *J Cereb Blood Flow Metab*, 35(11), 1771-1782.

Vertinsky, A. T., Li, D. K. B., Vavasour, I. M., Miropolsky, V., Zhao, G., Zhao, Y., . . . Laule, C. (2019). Diffusely Abnormal White Matter, T2 Burden of Disease, and Brain Volume in Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis. *J Neuroimaging*, 29(1), 151-159.

Villar, L. M., Casanova, B., Ouamara, N., Comabella, M., Jalili, F., Leppert, D., . . . Bar-Or, A. (2014). Immunoglobulin M oligoclonal bands: biomarker of targetable inflammation in primary progressive multiple sclerosis. *Ann Neurol*, 76(2), 231-240.

Villar-Quiles, R. N., Matías-Guiu, J. A., Ortega, G., Gonzalez-Suarez, I., Oreja-Guevara, C., & Matías-Guiu, J. (2016). Analysis of the Relationship between the Month of Birth and Risk of Multiple Sclerosis in a Spanish Population. *Eur Neurol*, 76(5-6), 202-209.

Villemagne, V. L., Furumoto, S., Fodero-Tavoletti, M. T., Mulligan, R. S., Hodges, J., Harada, R., . . . Okamura, N. (2014). In vivo evaluation of a novel tau imaging tracer for Alzheimer's disease. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 41(5), 816-826.

Vivash, L., & O'Brien, T. J. (2016). Imaging Microglial Activation with TS-PO PET: Lighting Up Neurologic Diseases? *J Nucl Med*, 57(2), 165-168.

Vogel, J. W., Mattsson, N., Iturria-Medina, Y., Strandberg, O. T., Scholl, M., Dansereau, C., . . . Swedish Bio, F. S. (2019). Data-driven approaches for tau-PET imaging biomarkers in Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp*, 40(2), 638-651.

Vrenken, H., Geurts, J. J., Knol, D. L., Polman, C. H., Castelijns, J. A., Pouwels, P. J., & Barkhof, F. (2006). Normal-appearing white matter changes vary with distance to lesions in multiple sclerosis. *AJNR Am J Neuroradiol*, 27(9), 2005-2011.

Wall, J. S., Williams, A. D., Foster, J. S., Richey, T., Stuckey, A., Macy, S., . . . Kennel, S. J. (2018). Bifunctional amyloid-reactive peptide promotes binding of antibody 11-1F4 to diverse amyloid types and enhances therapeutic efficacy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 115(46), E10839-E10848.

Watanabe, H., Ono, M., Iikuni, S., Yoshimura, M., Matsumura, K., Kimura, H., & Saji, H. (2014). A (68)Ga complex based on benzofuran scaffold for the detection of beta-amyloid plaques. *Bioorg Med Chem Lett*, 24(20), 4834-4837.

Watanabe, H., Ono, M., & Saji, H. (2015). In vivo fluorescence imaging of beta-amyloid plaques with push-pull dimethylaminothiophene derivatives. *Chem Commun (Camb)*, 51(96), 17124-17127.

Wattjes, M. P., Rovira, A., Miller, D., Yousry, T. A., Sormani, M. P., de Stefano, M. P., . . . group, M. s. (2015). Evidence-based guidelines: MAGNIMS consensus guidelines on the use of MRI in multiple sclerosis—establishing disease prognosis and monitoring patients. *Nat Rev Neurol*, 11(10), 597-606.

Weiner, H. L. (2008). A shift from adaptive to innate immunity: a potential mechanism of disease progression in multiple sclerosis. *J Neurol*, 255 Suppl 1, 3-11.

Willer, C. J., Dyment, D. A., Risch, N. J., Sadovnick, A. D., Ebers, G. C., & Canadian Collaborative Study, G. (2003). Twin concordance and sibling recurrence rates in multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100(22), 12877-12882.

Wong, D. F., Rosenberg, P. B., Zhou, Y., Kumar, A., Raymont, V., Ravert, H. T., . . . Pontecorvo, M. J. (2010). In vivo imaging of amyloid deposition in Alzheimer disease using the radioligand 18F-AV-45 (florbetapir [corrected] F 18). *J Nucl Med*, 51(6), 913-920.

Yang, L., Rieves, D., & Ganley, C. (2012). Brain amyloid imaging—FDA approval of florbetapir F18 injection. *N Engl J Med*, 367(10), 885-887.

Yousefi, B. H., Drzezga, A., von Reutern, B., Manook, A., Schwaiger, M., Wester, H. J., & Henriksen, G. (2011). A Novel (18)F-Labeled Imidazo[2,1-b]benzothiazole (IBT) for High-Contrast PET Imaging of beta-Amyloid Plaques. *ACS Med Chem Lett*, 2(9), 673-677.

Yu, F. F., Chiang, F. L., Stephens, N., Huang, S. Y., Bilgic, B., Tantiwongkosi, B., & Romero, R. (2018). *Characterization of normal-appearing white matter in multiple sclerosis using quantitative susceptibility mapping in conjunction with diffusion tensor imaging*. *Neuroradiology*.

Yushkevich, P. A., Piven, J., Hazlett, H. C., Smith, R. G., Ho, S., Gee, J. C., & Gerig, G. (2006). User-guided 3D active contour segmentation of anatomical structures: significantly improved efficiency and reliability. *Neuroimage*, 31(3),

1116-1128.

Zeis, T., Howell, O. W., Reynolds, R., & Schaeren-Wiemers, N. (2018). Molecular pathology of Multiple Sclerosis lesions reveals a heterogeneous expression pattern of genes involved in oligodendroglioneogenesis. *Exp Neurol*, 305, 76-88.

Zeydan, B., & Kantarci, O. H. (2018). Progressive Forms of Multiple Sclerosis: Distinct Entity or Age-Dependent Phenomena. *Neurol Clin*, 36(1), 163-171.

Zeydan, B., Lowe, V. J., Schwarz, C. G., Przybelski, S. A., Tosakulwong, N., Zuk, S. M., . . . Kantarci, O. H. (2018). Pittsburgh compound-B PET white matter imaging and cognitive function in late multiple sclerosis. *Mult Scler*, 24(6), 739-749.

Zhang, L., Chen, L., Dutra, J. K., Beck, E. M., Nag, S., Takano, A., . . . Villalobos, A. (2018). Identification of a Novel Positron Emission Tomography (PET) Ligand for Imaging beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1 (BACE-1) in Brain. *J Med Chem*, 61(8), 3296-3308.

Zhang, Y., Brady, M., & Smith, S. (2001). Segmentation of brain MR images through a hidden Markov random field model and the expectation-maximization algorithm. *IEEE Trans Med Imaging*, 20(1), 45-57.

Zivadinov, R., Grop, A., Sharma, J., Bratina, A., Tjoa, C. W., Dwyer, M., & Zorzon, M. (2005). Reproducibility and accuracy of quantitative magnetic resonance imaging techniques of whole-brain atrophy measurement in multiple sclerosis. *J Neuroimaging*, 15(1), 27-36.

Anexos

Anexo 1: Consentimiento informado para la participación en el estudio “PET amiloide en la esclerosis múltiple”

Hospital Clínico San Carlos

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PACIENTES

INFORMACIÓN SOBRE EL ESTUDIO

Título del proyecto: *“PET de amiloide en la esclerosis múltiple”*

Por favor, lea atentamente la información de este documento y asegúrese de haberla comprendido bien. Haga todas las preguntas que necesite. El personal del estudio le explicará cualquier palabra o información que no entienda bien.

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La esclerosis múltiple es una enfermedad desmielinizante. La capacidad de remielinización cuando existe una lesión es importante en el curso de la enfermedad. La PET con trazadores de amiloide, que es una prueba de imagen, podría ser útil como un marcador del estado de desmielinización/remielinización en esta enfermedad.

OBJETIVO DEL ESTUDIO

Estudiar la evolución clínica, cognitiva y radiológica de una serie de pacientes con Esclerosis Múltiple, teniendo en cuenta el estado de desmielinización/remielinización evaluado mediante PET de amiloide.

PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO

Se realizará una valoración clínica con recogida de datos relacionados con la

enfermedad, se realizará un estudio cognitivo (memoria y funciones superiores) y estudio PET de amiloide, que tiene hoja informativa adicional y consentimiento independiente.

PARTICIPACIÓN-RETIRADA DEL ESTUDIO

Su participación en este estudio es totalmente voluntaria. Tiene derecho a abandonar el estudio en cualquier momento. Su negativa a participar o la interrupción de su participación en el estudio no conllevarán ninguna sanción, ni afectarán a su atención médica, ni perderá beneficios a los que de otra manera tendría derecho.

CONFIDENCIALIDAD DEL ESTUDIO

Todos los datos recogidos en el transcurso del estudio serán tratados de forma estrictamente confidencial y serán utilizados para la valoración del estudio sin desvelar en ningún momento su nombre y apellidos. Los registros del estudio sólo

incluirán un código numérico de paciente sin incluir en él sus datos personales. El estudio ha sido evaluado por el Comité de Ética del Hospital Clínico San Carlos de Madrid.

De acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal, los datos personales que se le requieren (por ejemplo: edad, sexo, datos de salud, etc.) son los necesarios para cubrir los objetivos del estudio: en ninguno de los informes del estudio aparecerá su nombre, y su identidad no será revelada a persona alguna salvo para cumplir con los fines del estudio, y en el caso de urgencia médica o requerimiento legal. Cualquier información de carácter personal que pueda ser identificable será eliminada y sólo se asociará a un código numérico. Las personas que tendrán acceso a los datos recogidos durante el estudio serán únicamente los miembros del equipo de investigación que tienen obligación de salvaguardar la confidencialidad del estudio. Existe la posibilidad de que se presenten los resultados de esta investigación en reuniones y/o publicaciones, sin que su

identidad sea desvelada en ningún momento.

CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO

TÍTULO DEL ESTUDIO: “*PET amiloide en la esclerosis múltiple*”

Yo, _____.

He leído la hoja de información que se me ha entregado, he podido hacer preguntas sobre el estudio, he recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con: _____, comprendo que mi participación es voluntaria, comprendo que puedo retirarme del estudio:

- cuando quiera
- sin tener que dar explicaciones
- sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio. Doy mi consentimiento para que los datos obtenidos en este estudio puedan ser utilizados en este o futuros estudios siempre que estén aprobados por el Comité Ético y se mantenga la protección de los datos necesaria para evitar la identificación personal (marque la opción que desee)

☐ NO ☐ SI

Fecha:

Firma:

Nombre y apellidos del participante:

Nota: “La fecha debe ser escrita por el propio paciente”

Anexo 2: Consentimiento informado para PET-TAC con ^{18}F -FLORBETABÉN

Hospital Clínico San Carlos

SERVICIO DE MEDICINA NUCLEAR

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PET-TAC CON ^{18}F - FLORBETABÉN

PRUEBA A REALIZAR: PET-TAC CON ^{18}F -FLORBETABÉN

D./D^a.

_____,
como paciente (o representante del paciente D./D^a.

_____), manifiesto que he sido informado por el Dr.
_____ de los siguientes aspectos:

Se solicita mi consentimiento para realizar una exploración PET-TAC con ^{18}F -Florbetabén.

* **Procedimiento:** Se solicita mi consentimiento para realizar una exploración que utiliza rayos X y rayos γ (gamma) para estudiar el interior del cerebro. Se administrará por vía intravenosa un isótopo radiactivo (^{18}F -Florbetaben), para el que no se han descrito efectos secundarios graves ni reacciones alérgicas. El efecto secundario más frecuente es la irritación o dolor en el lugar de inyección ($\geq 1/100$ a $< 1/10$ pacientes); son efectos poco frecuentes ($\geq 1/1000$ a $< 1/100$ pacientes) algunos trastornos del sistema nervioso (sensación de ardor, cefalea, neuralgia, temblor), trastornos vasculares (rubor, hematomas, hipotensión), trastornos gastrointestinales (diarrea, náuseas), trastornos hepatobiliares (alteración de la función

hepática), de la piel y del tejido celular subcutáneo (hiperhidrosis, erupción), trastornos musculoesqueléticos (molestias en miembros, dolor en una extremidad), trastornos generales o alteraciones en el lugar de administración (eritema, dolor en lugar de inserción del catéter, molestias, hematoma, reacción local, cansancio, calor o pirexia), alteraciones renales (elevación de creatinina en sangre).

Los médicos que me atienden han solicitado esta prueba para obtener una información que ayudará a comprender y tratar mejor mi enfermedad.

Antes de firmar este consentimiento, si desea que le facilitemos más información o tiene cualquier duda, no tenga reparos en preguntarnos.

DECLARO que todas mis dudas y preguntas han sido convenientemente aclaradas y que he comprendido toda la información que se me ha proporcionado sobre la exploración, para qué sirve, cómo se hace, los riesgos que tiene y las posibles alternativas. Por ello, libremente doy mi

CONSENTIMIENTO a los profesionales adecuados que se precisen, para que se me (le) realice la exploración descrita.

PUEDO RETIRAR ESTE CONSENTIMIENTO CUANDO LO DESEE.

Observaciones del paciente:

Firma del paciente (familiar o
que informa:

Firma del médico

representante, en caso de incapacidad)

Fdo: _____

Fdo:

Fecha: _____

Fecha:

Anexo 2. Hoja de recogida de datos.



Hoja de recolección de datos

“PET AMILOIDE EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE”

Número de referencia del paciente _____

Fecha de entrada en el estudio _____

Fecha de nacimiento _____

1. Características demográficas del paciente

		Comentarios
Sexo	<input type="checkbox"/> Hombre <input type="checkbox"/> Mujer	
Edad actual/años	<input type="text"/> <input type="text"/>	
Escolaridad/años	<input type="text"/> <input type="text"/>	

Lateralidad	<input type="checkbox"/> diestro <input type="checkbox"/> zurdo <input type="checkbox"/> cruzada	
Lengua materna		

2. Entrada en el estudio

Cumple el paciente los criterios de inclusión	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
Cumple el paciente algún criterio de exclusión	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
Ha mostrado el paciente su <i>consentimiento escrito</i> a participar en el estudio	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
Fecha del <i>consentimiento</i> (día/mes/año)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	
Fecha de entrada en el estudio (<i>sólo si los tres primeros apartados de este bloque es sí</i>) (día/mes/año)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	
NEDA (4) a la entrada en el estudio		

3. Información clínica basal

Otro antecedente clínico de relevancia	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Si es que sí, indicar cuál
Antecedente familiar de EM u otra enfermedad autoinmune	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Si es que sí, indicar cuál y grado de parentesco
Forma clínica de EM	<input type="checkbox"/> EMRR <input type="checkbox"/> EMSP <input type="checkbox"/> EMPP	
Edad de inicio de la EM	<input type="text"/> <input type="text"/>	
Tiempo de evolución de la EM (meses)	<input type="text"/> <input type="text"/>	
Número total de brotes desde el inicio de la enfermedad	<input type="text"/> <input type="text"/>	
Situación clínica: EDSS (-,-)	<input type="text"/> , <input type="text"/>	
Tratamiento modificador de la enfermedad		
Estudio cognitivo	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
Fecha del estudio cognitivo (mes/año)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/>	
Cuestionario de fatiga	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Puntaje:

Fecha del cuestionario de fatiga (mes/ año)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/>	
Cuestionario de depresión	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Puntaje:
Fecha del cuestionario de depresión (mes/ año)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/>	
RM basal	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
Fecha de la RM (mes/año)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/>	
Fecha de la PET amiloide (mes/año)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/>	

4. Seguimiento a los 18 meses

¿Se ha realizado el seguimiento pautado en forma completa?	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Si es no, especifique _____
Forma clínica de EM	<input type="checkbox"/> EMRR <input type="checkbox"/> EMSP <input type="checkbox"/> EMPP	
Situación clínica: EDSS (-,-)	<input type="text"/> , <input type="text"/>	Si no se conoce, describa el motivo _____
Diferencia de EDSS entre evaluación basal y seguimiento	<input type="text"/> , <input type="text"/>	

NEDA (4) a los 18 meses		
Tratamiento modificador de la enfermedad		
¿Cambio de tratamiento modificador de la enfermedad respecto a la valoración basal?	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
Si la respuesta anterior es sí, detallar motivo del cambio de tratamiento		
Estudio cognitivo de seguimiento	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
Fecha del estudio cognitivo (mes/año)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/>	
Empeoramiento cognitivo	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	
Cuestionario de fatiga	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Puntaje:
Fecha del cuestionario de fatiga (mes/ año)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/>	
Cuestionario de depresión	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	Puntaje:
Fecha del cuestionario de depresión (mes/ año)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/>	
RM de seguimiento	<input type="checkbox"/> Sí <input type="checkbox"/> No	

Fecha de la RM de seguimiento (mes/año)	<input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/>	
---	---	--

¿Hay algún comentario o sugerencia adicional? ☐ Sí ☐ No. Si la respuesta es Sí, describir: _____